



# **UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO**



**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE MICROBIOLOGÍA Y  
PARASITOLOGÍA**

**Actinobacterias aisladas de raíces y suelo rizosférico  
de *Portulaca oleracea* L. como potenciales promotoras  
del crecimiento de plantas en suelos salinos**

## **TESIS**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN:  
BIOLOGÍA – MICROBIOLOGÍA – PARASITOLOGÍA**

**PRESENTADA POR:**

**BR. ALEXANDER GERARDO CALVAY REQUEJO  
BR. ARMANDO ANDRÉ JESÚS SANTISTEBÁN FARRO**

**LAMBAYEQUE, PERÚ**

**2018**

**UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE MICROBIOLOGÍA Y**  
**PARASITOLOGÍA**

**Actinobacterias aisladas de raíces y suelo rizosférico de**  
***Portulaca oleracea* L. como potenciales promotoras del**  
**crecimiento de plantas en suelos salinos**

**BR. ALEXANDER GERARDO CALVAY REQUEJO**  
**BR. ARMANDO ANDRÉ JESÚS SANTISTEBÁN FARRO**

**TESIS**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA –**  
**MICROBIOLOGÍA – PARASITOLOGÍA**

**APROBADA POR:**

---

**MSc. Clara A. Cueva Castillo**

**PRESIDENTE**

---

**Dr. César Estela Campos**

**SECRETARIO**

---

**Dr. Antero Vásquez García**

**VOCAL**

---

**Dr. Carmen Rosa Carreño Farfán**

**PATROCINADORA**

**LAMBAYEQUE, PERÚ**

**2018**

## *Dedicatoría*

### *A Díos*

*Por la bendición de la vida, la  
familia y la salud.*

### *A mis padres*

*Julia Requejo Quiroz y Nicasio  
Calvay Lizana por el apoyo  
que me brindan en todo  
momento.*

### *A mis tíos*

*Pablo Calvay Cruz y Genaro  
Lizana López, por estar  
siempre presente.*

*Alexander Gerardo*

### ***A Dios***

*Por haberme dado la vida y  
por haberme guiado hasta este  
momento de mi formación  
profesional.*

### ***A mis padres***

*Por brindarme siempre el  
cariño, apoyo y por ser siempre  
ejemplo de perseverancia y  
constancia.*

### ***A mi hermano***

*Por ser un pilar constante de  
apoyo y motivación.*

***Armando André Jesús***

## *Agradecimientos*

*A Dios por guiarnos en todo momento y nuestros padres por el apoyo incondicional.*

*Al Laboratorio de Suelos de la Facultad de ciencias Biológicas, de la Universidad Pedro Ruiz Gallo que nos brindaron todas las facilidades para el desarrollo de esta investigación.*

*A nuestra patrocinadora Dr. Carmen Rosa Carreño Farfán por sus valiosos consejos, recomendaciones, apoyo y aportes durante en este gran proyecto.*

*Al jurado distinguido*

*MSc. Clara A. Cueva Castillo*

*Dr. César Estela Campos*

*Dr. Antero Vásquez García,*

*q con sus observaciones y sugerencias nos ayudaron a mejorar para culminar el siguiente trabajo.*

## ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS.....	4
	2.1 Antecedentes de la investigación .....	4
	2.2 Marco teórico.....	5
	2.2.1 Rizobacterias promotoras del crecimiento de plantas.....	6
	2.2.2 Salinidad de suelos.....	8
	2.2.3 Recuperación de suelos salinos.....	10
	2.2.4 Microorganismos halófilos.....	11
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
	3.1 Materiales.....	15
	3.1.1 Material biológico.....	15
	3.1.2 Población y muestra.....	15
	3.2 Métodos.....	15
	3.2.1 Variables de la fase descriptiva.....	15
	3.2.2 Variables de la fase explicativa.....	15
	3.2.3 Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis.....	16
	3.2.4 Lugar de muestreo.....	16
	3.2.5 Obtención de muestras.....	16
	3.2.6 Aislamiento de Actinobacterias.....	20
	3.2.7 Mantenimiento de cultivos de Actinobacterias.....	26
	3.2.8 Cuantificación de nitrógeno fijado, fosfato solubilizado e indoles producidos.....	26
	3.2.9 Tolerancia de las Actinobacterias al cloruro de sodio.....	28
	3.2.10 Efecto de Actinobacterias en el desarrollo vegetativo de tomate.....	31
	3.2.11 Análisis estadístico de los datos.....	37

IV. RESULTADOS.....	38
4.1 Actinobacterias aisladas e identificados de <i>Portulaca oleracea</i> L... ..	38
4.2 Nitrógeno fijado, fosfato solubilizado e indoles producidos por Actinobacterias.....	45
4.3 Tolerancia de las Actinobacterias a diferentes concentraciones de cloruro de sodio.....	45
4.4 Actinobacterias seleccionadas.....	45
4.5 Efecto de las Actinobacterias en <i>Solanum lycopersicum</i> L.....	61
V. DISCUSIÓN.....	79
VI. CONCLUSIONES.....	84
VII. RECOMENDACIONES.....	85
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	86
IX. ANEXOS.....	98

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Frecuencia de morfotipos de colonias de Actinobacterias aisladas de raíces y suelo rizosférico de <i>Portulaca oleracea</i> L. en Lambayeque, 2017.....	40
<b>Tabla 2.</b> Frecuencia de géneros identificados en Actinobacterias aislados de raíces y suelo rizosférico de <i>Portulaca oleracea</i> L. en Lambayeque, 2017.....	41
<b>Tabla 3.</b> Nitrógeno fijado como amonio (ppm) por Actinobacterias aisladas de raíces y suelo rizosférico de <i>Portulaca oleracea</i> L.....	47
<b>Tabla 4.</b> Fósforo (ppm) cuantificado en la solubilización por Actinobacterias aisladas de raíces y suelo rizosférico de <i>Portulaca oleracea</i> L.....	51
<b>Tabla 5.</b> Indoles producidos (ppm) por Actinobacterias aisladas de raíces y suelo rizosférico de <i>Portulaca oleracea</i> L.....	55
<b>Tabla 6.</b> Características de Actinobacterias seleccionadas.....	60
<b>Tabla 7.</b> Índices de efectividad en la altura de plantas de <i>Solanum lycopersicum</i> L., 30, 45 y 60 días después de la inoculación de Actinobacterias.....	64
<b>Tabla 8.</b> Prueba de Tukey de la altura de plantas de <i>Solanum lycopersicum</i> L., 30, 45 y 60 días después de la inoculación de Actinobacterias.....	65
<b>Tabla 9.</b> Índices de efectividad en la biomasa radicular y aérea de <i>Solanum lycopersicum</i> L., 60 días después de la inoculación de Actinobacterias.....	73
<b>Tabla 10.</b> Prueba de Tukey de la biomasa radicular y aérea de <i>Solanum lycopersicum</i> L., 60 días después de la inoculación de Actinobacterias.....	74
<b>Tabla 11.</b> Rango de valores en las características de los géneros de Actinobacterias seleccionadas.....	77
<b>Tabla 12.</b> Actinobacterias promotoras de crecimiento <i>Solanum lycopersicum</i> L., durante 60 días en invernadero, 2017.....	78



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> <i>Portulaca oleracea</i> L. en los humedales de Eten, en Lambayeque, 2017.....	17
<b>Figura 2.</b> Diseño completamente aleatorio para determinar el efecto de Actinobacterias en el desarrollo vegetativo de <i>Solanum lycopersicum</i> L.....	18
<b>Figura 3.</b> Ubicación del distrito de Reque, provincia de Chiclayo, región Lambayeque, febrero, 2016.....	19
<b>Figura 4.</b> Ubicación de los Humedales de Eten, provincia de Chiclayo, región Lambayeque, febrero, 2016.....	19
<b>Figura 5.</b> Muestras de raíces con suelo rizosférico de <i>Portulaca oleracea</i> L.....	21
<b>Figura 6.</b> Suspensión de raíces y suelo rizosférico de <i>Portulaca oleracea</i> L. en solución salina esterilizada.....	21
<b>Figura 7.</b> Colonias de Actinobacterias desarrolladas en agar avena.....	22
<b>Figura 8.</b> Colonias de Actinobacterias nativas con micelo de sustrato pigmentado....	22
<b>Figura 9.</b> Colonias de Actinobacterias con micelo aéreo no pigmentado.....	23
<b>Figura 10.</b> Colonias de Actinobacterias con micelo aéreo pigmentado.....	23
<b>Figura 11.</b> Lámina cubreobjetos dispuesta con una inclinación de 45°C.....	24
<b>Figura 12.</b> Colonias de Actinobacterias después de 5 días de incubación en agar avena.....	24
<b>Figura 13.</b> Láminas portaobjetos con láminas cubreobjetos listas para la observación microscópica de Actinobacterias.....	25
<b>Figura 14.</b> Caldo extracto de suelo cultivado con Actinobacterias.....	27
<b>Figura 15.</b> Caldo National Botanical Research Institute's phosphate cultivado con Actinobacterias.....	29

<b>Figura 16.</b> Caldo tripticasa soya suplementado con triptófano cultivado con Actinobacterias.....	29
<b>Figura 17.</b> Caldo nutritivo cultivado con Actinobacterias.....	30
<b>Figura 18.</b> Cultivos puros de Actinobacterias seleccionados.....	32
<b>Figura 19.</b> Semillas de <i>Solanum lycopersicum</i> L.....	32
<b>Figura 20.</b> Prueba de germinación de semillas de <i>Solanum lycopersicum</i> L.....	33
<b>Figura 21.</b> Inóculo de Actinobacterias.....	33
<b>Figura 22.</b> Inoculación de Actinobacterias en semillas de <i>Solanum lycopersicum</i> L.....	35
<b>Figura 23.</b> Semillas de <i>Solanum lycopersicum</i> L. inoculadas con Actinobacterias.....	35
<b>Figura 24.</b> Suelo experimental en vasos de tecnopor.....	36
<b>Figura 25.</b> Colonias de Actinobacterias desarrolladas en agar avena.....	39
<b>Figura 26.</b> Cultivos puros de Actinobacterias en agar avena.....	39
<b>Figura 27.</b> Observación microscópica de esporóforos de <i>Streptomyces</i> sp. no espiralados (a), espirales primitivos (b), espirales abiertos (c), espirales cerrados (d).....	42
<b>Figura 28.</b> Observación microscópica de <i>Nocardia</i> sp.....	43
<b>Figura 29.</b> Observación microscópica de <i>Pseudonocardia</i> sp.....	43
<b>Figura 30.</b> Observación microscópica de <i>Saccharopolyspora</i> sp.....	44
<b>Figura 31.</b> Coloración observada en la cuantificación de amonio.....	46
<b>Figura 32.</b> Coloración observada en la cuantificación de fósforo soluble.....	50
<b>Figura 33.</b> Coloración observada en la cuantificación de indoles.....	54
<b>Figura 34.</b> Actinobacterias cultivadas en caldo nutritivo con 5% de cloruro de sodio..	58
<b>Figura 35.</b> Frecuencia de Actinobacterias tolerantes a 5% de cloruro de sodio.....	58
<b>Figura 36.</b> Actinobacterias cultivadas en caldo nutritivo con 10% de cloruro de sodio.....	59

<b>Figura 37.</b> Frecuencia de Actinobacterias tolerantes a 10% de cloruro de sodio.....	59
<b>Figura 38.</b> Altura de <i>Solanum lycopersicum</i> L., 30 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.....	62
<b>Figura 39.</b> Altura (cm) de <i>Solanum lycopersicum</i> L., 30 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.....	63
<b>Figura 40.</b> Altura de <i>Solanum lycopersicum</i> L., 45 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.....	66
<b>Figura 41.</b> Altura (cm) de <i>Solanum lycopersicum</i> L., 45 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.....	67
<b>Figura 42.</b> Altura (cm) de <i>Solanum lycopersicum</i> L., 60 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.....	68
<b>Figura 43.</b> Altura de <i>Solanum lycopersicum</i> L., 60 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.....	68
<b>Figura 44.</b> Altura (cm) de <i>Solanum lycopersicum</i> L., 60 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.....	69
<b>Figura 45.</b> Raíces de <i>Solanum lycopersicum</i> L., 60 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.....	71
<b>Figura 46.</b> Biomasa radicular (g) de <i>Solanum lycopersicum</i> L., 60 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.....	72
<b>Figura 47.</b> Biomasa aérea de <i>Solanum lycopersicum</i> L., 60 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.....	75
<b>Figura 48.</b> Biomasa aérea (g) de <i>Solanum lycopersicum</i> L., 60 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.....	76

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Cálculo del número de muestras para el aislamiento de Actinobacterias rizosféricas.....	99
<b>Anexo 2.</b> Medios de cultivo para el aislamiento, identificación y caracterización de Actinobacterias rizosférica.....	100
<b>Anexo 3.</b> Procedimiento para elaborar la curva de calibración para cuantificar el ión amonio.....	103
<b>Anexo 4.</b> Cuantificación de fósforo solubilizado <i>in vitro</i> .....	107
<b>Anexo 5.</b> Procedimiento para elaborar la curva de calibración para cuantificar indoles.....	110
<b>Anexo 6.</b> Temperaturas mínima, media y máxima durante el cultivo <i>Solanum lycopersicum</i> L.....	113
<b>Anexo 7.</b> Prueba de homogeneidad de varianzas y análisis de varianza de altura de <i>Solanum lycopersicum</i> L. a los 30 días.....	115
<b>Anexo 8.</b> Prueba de homogeneidad de varianzas y análisis de varianza de la altura de <i>Solanum lycopersicum</i> L. a los 45 días.....	116
<b>Anexo 9.</b> Prueba de homogeneidad de varianzas y análisis de varianza de la altura de <i>Solanum lycopersicum</i> L. a los 60 días.....	117
<b>Anexo 10.</b> Prueba de homogeneidad de varianzas y análisis de varianza de peso de biomasa aérea de <i>Solanum lycopersicum</i> L. a los 60 días.....	118

## RESUMEN

En la raíz y rizósfera de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga” se aislaron Actinobacterias para investigar su potencial como promotoras de crecimiento en *Solanum lycopersicum* L. “tomate” en un suelo salino. Las bacterias se aislaron en agar avena con antimicótico y las colonias desarrolladas se identificaron fenotípicamente. Se cuantificó el nitrógeno fijado como amonio, fósforo soluble producto de la solubilización de fosfato tricálcico, indoles producidos y tolerancia al 10% NaCl por las Actinobacterias *in vitro*. Los 24 cultivos de Actinobacterias que alcanzaron los mayores valores se inocularon en semillas de tomate y se determinó el efecto en las plantas, durante 60 días en invernadero. Se aislaron e identificaron las Actinobacterias *Streptomyces* (45,1%), *Nocardiopsis* (21,1%), *Nocardia* (16,7%), *Pseudonocardia* (11,8%), *Saccharopolyspora* (3,4%) y *Nocardioides* (1,9%). Las Actinobacterias fijadoras de nitrógeno, solubilizadoras de fosfato, productoras de indoles y tolerantes a 10% de NaCl: *Nocardiopsis* sp. 11.1.2, 14.1.1, 21.1.2, 40.1.2; *Pseudonocardia* sp. 26.2.3, 30.1.1, 31.1.2, 46.1.1, 50.2.1 y *Streptomyces* sp. 10.1.3, 14.1.2, 38.1.2, 42.2.2, 45.1.1, 45.2.2, 46.2.1, 49.2.1, 50.2.3, 53.2.2, incrementaron significativamente ( $p < 0,05$ ) la altura (6,0-34,0%), biomasa radicular (22-89%) y aérea (2-133%) de plantas de tomate en suelos salinos.

## ABSTRACT

In the root and rhizosphere of *Portulaca oleracea* L. "verdolaga" were isolated Actinobacterias to investigate their potential as growth promoters in *Solanum lycopersicum* L. "tomato" in a saline soil. Bacteria were isolated on oat agar with antimycotic and colonies were identified phenotypically. It was quantified, nitrogen fixed as ammonium, soluble phosphorus product of solubilization of tricalcium phosphate, indoles produced and tolerance to 10% NaCl by Actinobacterias in vitro. The 24 cultures of Actinobacterias that reached the highest values were inoculated in tomato seeds and the effect was determined in the plants, during 60 days in greenhouse. Actinobacteria were isolated and identified: *Streptomyces* (45,1%), *Nocardiopsis* (21,1%), *Nocardia* (16,7%), *Pseudonocardia* (11,8%), *Saccharopolyspora* (3,4%) and *Nocardioides* (1,9%). Actinobacteria, nitrogen fixers, phosphate solubilizers, producers of indoles and tolerant to 10% NaCl: *Nocardiopsis* sp. 11.1.2, 14.1.1, 21.1.2, 40.1.2; *Pseudonocardia* sp. 26.2.3, 30.1.1, 31.1.2, 46.1.1, 50.2.1 and *Streptomyces* sp. 10.1.3, 14.1.2, 38.1.2, 42.2.2, 45.1.1, 45.2.2, 46.2.1, 49.2.1, 50.2.3, 53.2.2, significantly increased ( $p < 0.05$ ) the height (6.0-34.0%), root biomass (22-89%) and aerial biomass (2-133%) of tomato plants in saline soils.

## I. INTRODUCCIÓN

La sequía y la salinidad del suelo son los dos problemas más comunes que afectan el crecimiento y productividad de los cultivos agrícolas. La salinidad es consecuencia del uso inadecuado de riego, de fertilizantes o por migración de las sales naturales desde las aguas subterráneas poco profundas del suelo, es común en las regiones áridas y semi - áridas y en el mundo existen en promedio 971 millones ha de suelos con acumulación de cantidades excesivas de sales solubles, sodio intercambiable o ambos (Wicke *et al.*, 2011). Como consecuencia, los suelos son improductivos y son abandonados, desfavoreciendo el gran desafío que se tiene para alimentar la población mundial, que en promedio es 6,8 billones de personas con una proyección de incremento de 3,1 billones para el 2050 (Bandera, 2013).

En la recuperación de los suelos salinos existen dos alternativas: acelerar el proceso de desalinización del suelo por lixiviación de sales en el perfil y mejorar la tolerancia al estrés salino de las variedades de cultivos existentes (Hernández, 2011). El proceso de lixiviación es lento y caro e implica el uso del agua, recurso invaluable que se está agotando muy rápidamente. Por su parte, la tolerancia puede ser incrementada favoreciendo la actividad microbiológica del suelo. Los microorganismos como las rizobacterias promotoras del crecimiento de plantas (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR) desempeñan un papel muy importante en la fertilidad del suelo o capacidad de aportar nutrientes a las plantas.

Entre la PGPR destacan las Actinobacterias, ubicuas y productoras de metabolitos con una amplia diversidad química y actividad biológica. Las PGPR pueden ser aisladas e inoculadas en las semillas o en la rizósfera de los cultivos agrícolas, beneficiándolos sobre todo cuando se presentan condiciones desfavorables (Stechmann, 2011; Aly *et al.*, 2012; Naz *et al.*, 2012), observándose incrementos en el

desarrollo vegetativo y rendimiento, (García *et al.*, 2004; Nezarat & Gholami, 2009; Mena *et al.*, 2009; Nicolalde y Quintana, 2010; Adjanohoun *et al.*, 2011; Naz *et al.*, 2012; Suwan *et al.*, 2012); así como también, una disminución de 25-50% en la dosis del fertilizante químico (Alfonso *et al.*, 2005; Balemi *et al.*, 2007; León *et al.*, 2011; Sarajuohi *et al.*, 2012); sin embargo, también se han reportado resultados contradictorios en los que no se ha obtenido la respuesta positiva esperada, posiblemente para los microorganismos no se adaptaron a las condiciones del suelo muy diferentes a las de su procedencia, no compitieron exitosamente con la biota nativa o no fueron capaces de sobrevivir en condiciones desfavorables (Díaz *et al.*, 2001; Santillana, 2006; Stefan *et al.*, 2008).

Las malezas como *Portulaca oleracea* L. “verdolaga”, proliferan en suelos con problemas de salinidad gracias a mecanismos propios como la tolerancia al ion sodio y el ajuste osmótico (Bandera, 2013), pero también desempeñan un rol muy importante los microorganismos asociados a la rizósfera (Chávez y Álvarez, 2011), los cuales se adaptaron a las condiciones adversas del entorno y como consecuencia maximizaron sus capacidades como PGPR. Por tanto, es posible que estas bacterias además de un mayor efecto benéfico, puedan tener éxito en el establecimiento después de la inoculación. Lambayeque tiene problemas con la salinidad de los suelos (Soca, 2015); sin embargo, en la actualidad las Actinobacterias de la raíz y rizósfera de la verdolaga no se han aislado para ser caracterizadas y que posteriormente puedan ser utilizadas como biofertilizantes en suelos con problemas de salinidad.

Las Actinobacterias tienen capacidad para promover el crecimiento de plantas y pueden sobrevivir como esporas en condiciones desfavorables por lo que se consideran apropiadas para la formulación de productos comerciales viables y estables, de uso en la agricultura. La presente investigación permitirá aislar e identificar Actinobacterias propias de la región con potencial para la biofertilización, generando valor agregado a la biodiversidad regional, a la vez que se disminuye el riesgo de la salud de los seres vivos y el efecto negativo de los insumos químicos en el ambiente. Por lo expuesto, se planteó el siguiente problema: ¿Cuál es el potencial como promotoras del crecimiento de plantas en suelos con salinidad de las Actinobacterias aisladas de raíces y suelo rizosférico de *Portulaca oleracea* L.? El objetivo general fue determinar el potencial de Actinobacterias aisladas de raíces y rizósfera de *Portulaca oleracea* L. como promotoras del crecimiento de plantas en suelos con salinidad.



Los objetivos específicos fueron: aislar e identificar fenotípicamente Actinobacterias de las raíces y suelo rizosférico de plantas de verdolaga, cuantificar el nitrógeno fijado, fosfato solubilizado e indoles producidos por las Actinobacterias, determinar la tolerancia de las Actinobacterias a diferentes concentraciones de cloruro de sodio, seleccionar las Actinobacterias con la mayor tolerancia al cloruro de sodio y con los mayores valores en el nitrógeno fijado, fosfato solubilizado e indoles producidos y determinar el efecto de estas Actinobacterias en la altura, biomasa aérea y radicular de las plantas de *Solanum lycopersicum* L. en suelos con salinidad. La hipótesis planteada fue: Las Actinobacterias aisladas de raíces y suelo rizosférico de verdolaga fijan nitrógeno, solubilizan fosfato, producen indoles, toleran 10% de NaCl e incrementan la altura y biomasa aérea y radicular de plantas de tomate en suelos con salinidad.

## II. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

### 2.1 Antecedentes de la investigación

Las PGPR tienen mayor efecto estimulador en los suelos deficitarios que en suelos fértiles. En este contexto, se investigó el efecto de *Bacillus polymyxa*, *Pseudomonas* sp. y *Mycobacterium* sp. en el cultivo de maíz. Se observó que las bacterias incrementaron significativamente la materia seca de sus tallos (17-30%), raíces (19-52%) y peso total (17-38%) de las plantas de maíz provenientes de suelos calcisoles a pH 7,8; deficitarios en nutrientes en comparación con las de suelos arenoso con pH 6,1. En los suelos fértiles las bacterias solo incrementaron significativamente el peso de las raíces, pero no el de los tallos, ni el peso total de las plantas (Egamberdiyeva, 2007).

Considerando la importancia del fósforo para el óptimo desarrollo de los cultivos agrícolas, se realizó una investigación para caracterizar microorganismos solubilizadores de fosfatos. Se colectaron muestras de rizósfera, rastros, malezas y materia orgánica, en descomposición, las cuales previa dilución en solución salina (NaCl 0,85% p/v) se sembraron en medio SMRS1. Después de la incubación a 30° C, por 72 horas, se seleccionaron colonias bacterianas con halos de solubilización, entre las que 93% correspondió a bacterias Gram negativas. En medio NBPRIP, después de 7 días, se determinó un rango de 1,5-4,2 mm en el índice de solubilización, alcanzando los mayores valores *Burkholderia cepacia*, *Pantoea* sp., *Pseudomonas putida*, *Aeromonas hydrophila* y *Enterobacter* sp. (Lara et al., 2011).

*Streptomyces* sp. (A1-19/01) caracterizada como PGPR fue multiplicada en sustratos con diferente contenido de materia orgánica (1,9-30,042%), cultivado con papa var. Serranita; alcanzando  $8 \times 10^7$  UFCg<sup>-1</sup>. Esta bacteria inoculada en las semillas

de papa, antes y al momento de la siembra, incrementó el desarrollo vegetativo y rendimiento del cultivo y el efecto se hizo más evidente en los sustratos con elevada conductividad eléctrica (9,8-9,21 dSm<sup>-1</sup>), donde el desarrollo y rendimiento de las plantas testigos fue mínimo (1,14-2,50 g). En los tratamientos con inoculación, los incrementos por efecto de *Streptomyces* sp. fueron de 208 y 341% en el peso de la biomasa fresca y seca de las plantas, así como 133, 3000, 5600 y 1600 % en el número tubérculos, peso fresco y seco de tubérculos e índice de cosecha de papa, respectivamente (Stechmann, 2011).

En suelos rizosféricos de *Triticum aestivum* L. “trigo” se aislaron 22 morfotipos de bacterias para investigar su potencial promotor del crecimiento de plantas en suelos salinos. El 77, 27% sintetizó ácido indolacético y se seleccionaron dos aislados identificados como *Azotobacter vinelandii* y *Streptomyces* sp. Estas bacterias cultivadas en agar Ashby sacarosa y agar almidón-nitrato respectivamente, fueron inoculadas independientemente y en cultivo mixto en dos oportunidades, a las semillas y después de la emergencia, observándose aumento de la germinación, así como en el crecimiento y desarrollo de las plántulas en condiciones normales y salinas. La inoculación de las bacterias disminuyó los efectos adversos del cloruro de sodio y la concentración de prolina, en comparación con el control, concluyéndose que pueden ser utilizadas como biofertilizantes en suelos salinos (Aly *et al.*, 2012).

En suelos agrícolas con problemas de salinización, se investigó el potencial como bioinoculante de *Azotobacter vinelandii* aislada de raíces de la maleza *Chrysopogon acheri*. La población de la bacteria osciló entre 10<sup>7</sup> – 10<sup>8</sup> UFCg<sup>-1</sup>. La identificación fenotípica y molecular determinó la identidad con *A. vinelandii*. Este aislado sintetizó ácido indolacético (2,7 ppm), giberílico (2,2 ppm) y abscísico (0,5 ppm), así como también estimuló el crecimiento de plantas de maíz y aumentó el contenido de prolina en la raíz y brotes, tanto en suelos normales como en salinos, siendo mayor en estos últimos (Naz *et al.*, 2012).

## **2.2 Marco teórico**

La agricultura orgánica propone para los cultivos agrícolas la utilización de opciones tecnológicas como las bacterias promotoras del crecimiento de plantas para producir alimentos sanos, proteger la calidad del ambiente y la salud humana e intensificar las interacciones biológicas y los procesos naturales beneficiosos. Se comparten los principios de la agricultura natural, ecológica, biodinámica y biológica, promoviendo la sustentabilidad de los sistemas agrícolas desde el punto de vista productivo, ecológico, económico y social (Dávila, 2004).

En la rizósfera de las plantas se consideran tres componentes: el suelo rizosférico, el rizoplaneo y la raíz misma. El suelo rizosférico es la zona del suelo influenciada por las raíces a través de la liberación de exudados por efecto de la actividad microbiana. El rizoplaneo es la superficie de la raíz, incluidas las partículas fuertemente adheridas a la raíz. La raíz misma también forma parte de la rizósfera, porque determinados microorganismos son capaces de colonizar los tejidos internos (Nihorimbere *et al.*, 2011).

Kloepper & Schroth (1978), propusieron el término rizobacterias para las bacterias del suelo que competitivamente colonizaban las raíces, estimulaban el crecimiento de las plantas y a la vez reducían la incidencia de las enfermedades. En 1981, estos mismos investigadores denominaron a estas bacterias promotoras de crecimiento en plantas (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR). En la actualidad, este concepto se usa para las bacterias que cumplen con dos de los tres criterios establecidos, como son colonización agresiva, estimulación del crecimiento vegetal y biocontrol (Bhattacharyya & Jha, 2012).

### **2.2.1 Rizobacterias promotoras del crecimiento de plantas**

Las PGPR benefician a los cultivos agrícolas a través de mecanismos directos e indirectos (Sathya *et al.*, 2017). La promoción directa ocurre cuando las PGPR sintetizan metabolitos y facilitan a las plantas la toma de nutrientes mientras que la promoción indirecta lleva a cabo cuando las PGPR disminuyen o previenen el efecto deletéreo de fitopatógenos en el control biológico. Los mecanismos directos incluyen la síntesis de reguladores del crecimiento (auxinas, giberelinas, citoquininas), solubilización de minerales fosfatos, fijación de nitrógeno atmosférico, producción de sideróforos y estimulación del sistema de absorción de iones como los nitratos. Entre los mecanismos indirectos o de biocontrol se encuentran la competencia por un nicho ecológico o por nutrientes, la interacción directa con los patógenos (parasitismo y lisis enzimática), antibiosis o amensalismo, producción de sideróforos e inducción de resistencia sistémica a la planta (Hernández *et al.*, 2006; Bhattacharyya & Jha, 2012; Sathya *et al.*, 2017).

Las bacterias fijadoras de nitrógeno convierten el nitrógeno molecular en amoníaco, gracias al complejo enzimático nitrogenasa, constituido por dos metaloproteínas: la molibdeno-ferroproteína (I) y la ferroproteína (II). A su vez, se requieren las proteínas ferredoxina y flavodoxina como donadoras de electrones y reductores naturales de la nitrogenasa. En el proceso, los electrones son llevados por la ferredoxina hacia la ferroproteína (reducción de la ferroproteína), que a su vez activa

el molibdeno –ferroproteína (transferencia de electrones) y se produce la reducción del nitrógeno, siendo luego fijado a compuestos aminados (Lara *et al.*, 2007).

La solubilización de fosfatos precipitados consiste en la liberación de fosfato inorgánico soluble a partir de fosfatos insolubles y las PGPR responsables del proceso se denominan solubilizadoras del fósforo. El principal mecanismo para la solubilización de los fosfatos, es la producción de ácidos orgánicos, aunque también se consideran los ácidos inorgánicos como el sulfhídrico, nitrito y carbónico, la excreción de protones acompañada de la asimilación del ion amonio y la acción de mecanismos reductores de los cationes. Por su parte, en el proceso de mineralización del fósforo, las PGPR pueden movilizar el fósforo de la materia orgánica no soluble del suelo y convertirlo en fósforo inorgánico soluble, mediante la excreción de enzimas hidrolíticas como fosfatasa, fitasa y fosfonatasa (Carreño, 2009).

El efecto positivo de las PGPR está relacionado con el crecimiento en la longitud de las raíces laterales, así como el número y longitud de los pelos radiculares, cambios que se asocian con la síntesis de auxinas, citoquininas y giberelinas. En un modelo hipotético, el AIA sintetizado por las bacterias es tomado por la planta y junto con el AIA endógeno (de la planta) estimula la división y alargamiento de las células o bien promueve la síntesis de ácido 1-amino-ciclopropano-1-carboxílico (ACC), con la activación de la enzima ACC sintasa. Como consecuencia, aumenta la síntesis del ACC, que normalmente es un compuesto precursor inmediato del etileno y que a su vez inhibe la elongación de las raíces. El ACC es tomado activamente por las bacterias para ser hidrolizado por la enzima amino ciclopropano carboxilasa desaminasa (ACC desaminasa), transformándose en alfa-cetobutirato y amonio. Las bacterias inducen a la planta a sintetizar más ACC de lo que necesita para que éstas tengan una fuente de nitrógeno disponible. Una consecuencia directa de la disminución del ACC en la planta (endógeno y bacteriano) es la reducción de etileno, con incremento significativo en la formación de los pelos radiculares (Loredo *et al.*, 2004).

El Phylum Actinobacteria agrupa bacterias Gram positivos, filamentosos, pleomórficos, formadores de esporas que le permiten sobrevivir durante largos períodos. En su mayoría son mesófilos y se les encuentra como rizosféricas, epífitas y endófitas de diferentes cultivos agrícolas (Gangwar *et al.*, 2015; Qin *et al.*, 2015) y en rastrojos y materia orgánica en descomposición (Lara *et al.*, 2011).

Las Actinobacterias como otros PGPR benefician a las plantas mediante mecanismos directos e indirectos. Los directos se refieren a la fijación de nitrógeno

(Qin *et al.*, 2015), solubilización de fosfatos (Beltrán, 2014) producción de fitohormonas (Gangwar *et al.*, 2015) e incremento de la disponibilidad de fierro (Gangwar *et al.*, 2015). Los mecanismos indirectos o de control biológico incluyen la competencia por nutrientes, producción de sustancias con efecto inhibitorio como amoníaco, cianuro, alcoholes, aldehídos, cetonas, enzimas degradadoras de la pared celular y metabolitos con propiedades biocidas (El-Tarabily & Sivasithamparam, 2006; Dias *et al.*, 2017; Sathya *et al.*, 2017).

Las Actinobacterias son tolerantes a condiciones extremas de temperatura, salinidad y metales. La inoculación de cepas previamente caracterizadas como tolerantes promueven el crecimiento de las plantas debido a que minimizan el “estrés” que induce la muerte prematura de las plantas en condiciones desfavorables. Las Actinobacterias producen la enzima ACC desaminasa que convierte el precursor del etileno en amonio y  $\alpha$  – cetobutirato, con la consecuente disminución del etileno. En Actinobacterias de los géneros *Streptomyces*, *Nocardia*, *Mycobacterium* y *Rhodococcus* entre otros se ha caracterizado esta enzima (Siddiquee *et al.*, 2010; Sathya *et al.*, 2017).

### **2.2.2 Salinidad de suelos**

La contaminación del suelo agrícola con sales solubles es conocida como salinización, principal forma de degradación en regiones áridas y semiáridas, donde la precipitación es demasiado baja para mantener la regular percolación de sales de la zona de las raíces de los cultivos. Los suelos salinos contienen gran cantidad de sales solubles, predominantemente del tipo cloruros de sodio y sulfatos de sodio, lo que genera una elevada relación de sodio (RAS) de la solución de suelo (Hernández, 2011).

La salinidad es definida como la presencia de excesiva concentración de sales solubles en el suelo, que limitan el crecimiento de las plantas, pudiendo inclusive causar su muerte. Los suelos salinos y sódicos son aquellos que presentan concentraciones excesivas de sales solubles, sodio intercambiable o ambos, de tal manera que afectan su productividad (Chávez y Álvarez, 2011; Bandera, 2013). Los principales cationes de las sales solubles en los suelos salinos son el sodio, calcio y magnesio y los aniones más significativos son el sulfato, cloruro y bicarbonato. La salinidad es consecuencia de la presencia de las sales más solubles que el yeso y que por sus propias características se encuentran tanto en la fase sólida como en la fase líquida, por lo que tienen una extraordinaria movilidad. Las de mayor interés para los suelos son los sulfatos ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), bicarbonatos ( $\text{HCO}_3^-$ ) y los cloruros ( $\text{Cl}^-$ ) de bases  $\text{Ca}^{2+}$ ,

Mg<sup>2+</sup> y Na<sup>+</sup>, predominando en los suelos salinos los cloruros y sulfatos (Partida *et al.*, 2006).

Los parámetros mediante los cuales se evalúan los suelos salinos son: conductividad eléctrica, porcentaje de sodio intercambiable y relación de absorción de sodio. El porcentaje de sodio intercambiable (PSI) se refiere al nivel de Na<sup>+</sup> adsorbido en el suelo, en los lugares de intercambio catiónico. La relación de adsorción de sodio (RAS) refleja la sodicidad de los suelos. El PSI puede ser estimado desde el RAS del extracto de saturación de pasta (Hernández, 2011).

La conductividad eléctrica (CE) se basa en la velocidad con la que la corriente eléctrica atraviesa una solución salina, la cual es proporcional a la concentración de sales de la solución. Hasta hace unos años se expresaba como mmhos/cm. Hoy en día se expresa en deciSiemens por metro (dSm<sup>-1</sup>), siendo ambas medidas equivalentes (1 mmhos/cm<sup>-1</sup> = 1 dSm<sup>-1</sup>) (Dávila, 2004; Soriano, 2004). La CE del extracto acuoso agrupa cinco clases de suelos: grado de salinidad bajo o suelos normales (CE= <2 dSm<sup>-1</sup>) con ningún efecto negativo sobre el crecimiento de las plantas; grado de salinidad leve o suelos ligeramente salinos (CE= 2-4 dSm<sup>-1</sup>) con leve efecto sobre las plantas; grado de salinidad alto o suelos moderadamente salinos (CE= 4-8 dSm<sup>-1</sup>), con disminución en el rendimiento de la mayoría de cultivos; grado de salinidad muy alto o suelos fuertemente salinos (CE= 8-16 dSm<sup>-1</sup>), donde muy pocos cultivos soportan las condiciones y solo los tolerantes obtienen rendimientos aceptables y grado de salinidad extremadamente alto o suelos extremadamente salinos, (CE= >16 dSm<sup>-1</sup>), con muchas restricciones para los cultivos (Dávila, 2004).

El pH del suelo es una medida de la concentración de iones hidrógeno (H<sup>+</sup>) en la disolución del suelo. Expresa el grado de acidez o alcalinidad del suelo. Según el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (*United States Department of Agriculture, USDA*) el suelo por su pH puede ser extremadamente ácido (<4,5), muy fuertemente ácido (4,5-5), fuertemente ácido (5,1-5,5), medianamente ácido (5,6-6), ligeramente ácido (6,1-6,5), neutro (6,6-7,3), medianamente básico (7,4-7,8), básico (7,9-8,4), ligeramente alcalino (8,5-9), alcalino (9,1-10), y fuertemente alcalino (>10). Dependiendo del pH, el suelo será o no adecuado para los cultivos (Cordero, 2010).

La conductividad eléctrica del extracto seco de saturación (CE), porcentaje de sodio intercambiable (PSI) y pH, diferencian suelos normales (CE <2 dSm<sup>-1</sup> a 25° C, PSI <15 y pH 6-7); salinos (CE >4 dSm<sup>-1</sup> a 25°C, PSI <15 y pH <8,2); salinos - sódicos (CE es >4 dSm<sup>-1</sup>, PSI >15 y pH >8,2) y sódicos (CE < 4 dSm<sup>-1</sup>, PSI >15 y pH >8,2) (Bandera, 2013). La conductividad eléctrica, la relación de absorción de sodio

clasifican los suelos en salinos ( $CE > 4 \text{ dScm}^{-1}$ ;  $PSI = 0-15\%$ ;  $RAS = 0-12$ ); sódicos ( $CE = 0-4 \text{ dScm}^{-1}$ ;  $PSI > 15\%$ ;  $RAS > 12$ ); salinos-sódicos ( $CE > 4 \text{ dScm}^{-1}$ ;  $PSI > 15\%$ ;  $RAS > 12$ ) y normales ( $CE = 0-4 \text{ dScm}^{-1}$ ;  $PSI = 0-15\%$ ;  $RAS = 0-12$ ) (Hernández, 2011).

La salinización de los suelos se produce mediante cinco mecanismos. La salinidad por el riego incluye el ascenso capilar de aguas subterráneas, evaporación del agua desde campos irrigados, evaporación del agua desde los canales y sus reservorios y anegación por pérdidas por infiltración. La salinidad de regiones áridas es producto de la eliminación de la vegetación y pérdida de agua en exceso por evapotranspiración. La salinidad urbana es producto de las alcantarillas, drenajes defectuosos y entradas de agua de irrigación. La transferencia de aguas entre cuencas incluye la mineralización de las aguas de la cuenca y descenso de las aguas y desecación de reservorios. A su vez, la salinidad por transferencia de aguas desde la costa procede del bombeo excesivo, recarga reducida de agua dulce, aumento el nivel del mar y hundimiento del suelo (Goudie, 2003).

La formación de suelos afectados por sales requiere de la presencia de una fuente de sales solubles y de un balance donde los procesos de acumulación prevalezcan periódica o permanentemente sobre los de lavado. Los procesos de salinización o de sodificación se deben a la acumulación de sales o de sodio intercambiable en las partes más deprimidas del relieve. Éstas reciben las aguas de escorrentía o el aporte de capas freáticas salinas, que al ascender en períodos de lluvias abundantes, depositan cantidades considerables de sales en el perfil del suelo. Al finalizar el período lluvioso, el agua es eliminada por evaporación e infiltración y comienza la desecación de las capas superiores del suelo. Al intensificarse el proceso, se produce el ascenso capilar del agua freática que al evaporarse, enriquece de sales el perfil y principalmente la porción superior del suelo (Bandera, 2013).

### **2.2.3 Recuperación de suelos salinos**

Las prácticas de mejoramiento y manejo de los suelos salino y salinizados son agrupadas en físicas, químicas, biológicas y agrotécnicas (Chávez y Álvarez, 2011). El método más utilizado es el lavado o lixiviación de las sales solubles con agua de baja salinidad, que se aplica en una lámina grande para disolver las sales y removerlas de la zona radical. Es indispensable que el suelo sea permeable y que exista una salida para el agua de drenaje. Los métodos químicos se usan para sustituir el  $\text{Na}^+$  y el  $\text{Mg}^{++}$  contenidos en el complejo de cambio, por el  $\text{Ca}^{++}$ , usándose frecuentemente sulfato y cloruro de calcio. Los métodos agrotécnicos como la aplicación de materia orgánica están dirigidos a mejorar las propiedades físicas y la fertilidad del suelo. Entre los



métodos biológicos están las plantas tolerantes extractoras de sales, fundamentalmente de interés forrajero (Chávez y Álvarez, 2011).

El uso de seres vivos para rehabilitar ambientes contaminados se denomina biorremediación. La utilización de plantas y su microbiota asociada para el tratamiento *in situ* del suelo se denomina fitorremediación. Esta estrategia está basada en los cambios generados en el suelo por el crecimiento de especies vegetales tolerantes a la sodicidad como *Cynodon dactylon* (Rivera *et al.*, 2014) *Ulmus* sp., *Tamarix* sp., *Acacia* sp., *Sesbania exaltata*, *Cyperus* sp. (Dávila, 2004). *Atriplex canescens* (Bojórquez, 2007), *Leptochloa fuscá*, *Lolium perenne*, *Sesbania bispinosa* L. *Medicago sativa*, *Sorghum sudanense*, *Salicornia bigelorii* Ton., *Chenopodium álbum*, *Echinochoa crusgalli* L. y *Portulaca oleracea* L. (Chávez y Álvarez, 2011).

Las plantas de *Portulaca oleracea* L. son herbáceas anuales, con raíces axonomorfas de hasta 40 cm y tallos ramificados de hasta 60 cm de longitud. Las hojas son oblongas sésiles, alternas o subopuestas aglomeradas bajo las flores con cinco pétalos y dos sépalos, reunidas en grupos de tres o cinco, en las axilas de los tallos o en los extremos apicales. El fruto es un pixidio o cápsula ovoide con dehiscencia ecuatorial y numerosas semillas negras y brillantes (Rodríguez, 2013). La verdolaga se consume como verdura o como ingrediente de sopas y ensaladas y es la fuente más rica en ácido linoleico (LNA): 4mg/g<sup>-1</sup> de peso seco entre los vegetales de hojas verdes (Páez *et al.*, 2007). Se han encontrado 27 ácidos grasos en las hojas, siendo los más abundantes el linoleico (27,7 – 39,14%), palmítico (19,3 – 24,3%) y oleico (11,6 – 19,5%). Contiene ácidos orgánicos como el fumárico, cítrico y málico (Rodríguez, 2013) y B-caroteno y también acumula ciertos principios tóxicos como oxalatos, nitratos y saponinas (Fernández *et al.*, 2009).

#### **2.2.4 Microorganismos halófilos**

Los microorganismos halófilos así como los halotolerantes son aquellos que se encuentran en los ambientes hipersalinos, pero se diferencian en que los halófilos son capaces de reproducirse y realizar funciones metabólicas de una manera más eficaz en presencia de altas concentraciones de sales que en su ausencia. Existe una diversidad de microorganismos halófilos en los tres dominios: Archaea, Bacteria y Eukarya, ampliamente distribuidos en los medios hipersalinos como zonas áridas hipersalinas, costas y diferentes profundidades del mar, entre otros (González y Peña, 2002; Ma *et al.*, 2010; Castro *et al.*, 2011).

Los grupos fisiológicos de microorganismos según la concentración de sales óptima para su crecimiento son: (1) no halófilos (< 0,2 M NaCl); (2) halotolerantes (no

halófilos que toleran alta concentración de sal); (3) ligeramente halófilos (0,2–0,5M NaCl); (4) halófilos moderados (0,5-2,5M NaCl) y (5) halófilos extremos (2,5–5,5M NaCl) (Zhuang *et al.*, 2010). Los grupos principales de microorganismos adaptados a condiciones hipersalinas son: los Archaea halófilos y las Bacteria halofílicas (Zhuang *et al.*, 2010).

Las sales se requieren para todas las formas de vida; no obstante, los microorganismos halófilos se distinguen o clasifican por el requerimiento de condiciones hipersalinas para su crecimiento: halófilos ligeros o débiles crecen con una concentración de NaCl que oscila entre 0,2 y 0,85 M (2-5%); los halófilos moderados, con 0,85-3,4 M (5-20%) de NaCl y los halófilos extremos con 3,4 - 5,1M (20-30%) de NaCl. En contraste, los organismos no halófilos solo pueden crecer por debajo de 0,2M de NaCl. Los organismos halotolerantes son aquellos que habitualmente viven mejor sin sal; no obstante, admiten cierta concentración en su medio ambiente, pudiendo crecer en presencia y en ausencia de altas concentraciones de sal, con requerimiento o tolerancia para algunas sales, dependiendo del medio y los factores nutricionales (González y Peña, 2002; Meseguer, 2004).

La existencia del mundo microbiano en ambientes de alta concentración de sal es posible gracias a dos estrategias fundamentales: i) Las células mantienen altas concentraciones intracelulares de sal, osmóticamente o al menos equivalente a la concentración externa de sal (“high-salt-in” strategy) y algunos sistemas intracelulares deben adaptarse a las altas concentraciones de sal. Las Halobacteriaceae *Salinibacter* y anaerobios Haloanaerobiales requieren proteínas intracelulares para ser estables y activos en presencia de KCl y otras sales; ii) Las células mantienen bajas concentraciones de sales en su citoplasma (“compatible organic solute strategy”). La presión osmótica del medio es balanceada por solutos compatibles y no se requiere una adaptación especial de los sistemas intracelulares (Díaz, 2007; Ma *et al.*, 2010).

La estrategia “salt-in” es utilizada por dos grupos filogenéticamente no relacionados. Los aerobios extremadamente halófilos del Phylum Archaea, orden Halobacteriales y las bacterias anaerobias halófilas del orden Haloanaerobiales. La composición iónica del citoplasma difiere de la del medio, pero en la mayoría contiene NaCl como principal componente salino. Este medio se caracteriza por la presencia de concentraciones molares de KCl. Para la adaptación osmótica, las enzimas y componentes estructurales de las células; presentan ciertas características como el exceso de aminoácidos con carácter ácido y pocos aminoácidos hidrofóbicos en las proteína (González y Peña, 2002).

La estrategia “compatible solute” se refiere a los solutos compatibles o solutos que a elevadas concentraciones permiten a las enzimas funcionar eficientemente. Estos solutos son sintetizados por las células o tomados del medio, donde se encuentran disponibles. Entre los solutos se mencionan algunos polioles, como el glicerol y arabinitol, azúcares y derivados sacarosa, trehalosa, glucosil-glicerol, aminoácidos y derivados de aminos cuaternarias como la glicina betaína. Los solutos compatibles son de bajo peso molecular, altamente solubles en agua, sin carga o con propiedades zwitteriónicas a un pH fisiológico (González y Peña, 2002).

Las bacterias halófilas extremas crecen en concentraciones de 2,8-6,2M NaCl. Una de sus características es la ausencia de peptidoglicano no sólo en las paredes de las halobacterias sino también en las paredes de la Gram positiva del género Halococci. La inestabilidad de la pared celular refleja un requerimiento específico de solutos, que es descrito como la relación con el agua (“water relations”). La fisiología intracelular de las halófilas extremas está dominada por la masiva acumulación de  $K^+$  y  $Cl^-$  y por una eficaz exclusión del  $Na^+$ . Las enzimas asociadas con la membrana celular tienen un óptimo en su actividad en la concentración de 4M de NaCl o KCl, las enzimas ribosomales tienen un requerimiento específico por KCl en un óptimo cercano de 4M. Por su parte, las enzimas citoplasmáticas que se inhiben con altas concentraciones de sal funcionan porque la composición intracelular es tal que el impacto del ambiente es ligero. Si el KCl no se acumulara, la actividad relativa del agua ( $a_w$ ) y la concentración total de soluto podrían ser iguales. Este ajuste termodinámico al medio puede llevarse a cabo por la pérdida de agua (González y Peña, 2002).

El habitat natural de las bacterias halófilas extremas está constituido por salinas marinas y lagos hipersalinos de todo el mundo, en lugares donde la salinidad es diez veces superior al agua de mar. Todos los halófilos caracterizados son aerobios obligados o anaerobios facultativos, Gran positivos o Gran negativos, morfológicamente son cocos y bacilos que adoptan multitud de formas: rectángulos, triángulos irregulares, discos y muchos tienen aspecto pleomórfico. Algunos géneros son móviles mientras que otros carecen de movimiento, las colonias presentan coloración rojiza por la producción de carotenoides rosas o blancas y además poseen vacuolas de gas que les permiten flotar en la superficie. Los carotenoides están incorporados en la membrana y protegen a la célula de la acción fotooxidadora de la luz solar (Quillahuaman *et al.*, 2004; Ventosa, 2006; Dyll, 2008).

La temperatura óptima de crecimiento de muchas especies halófilas es de 40-50° C, aunque temperaturas inferiores (37-42° C) son empleadas para el cultivo de

estos microorganismos en el laboratorio, con el fin de incrementar la solubilidad del oxígeno en medios de cultivos líquidos (Dyall, 2008). Los halófilos crecen bien como quimiorganótrofos, muchos tienen requerimientos nutricionales sencillos y pueden desarrollarse con una fuente de carbono y energía, amonio como fuente de nitrógeno y fosfato como fuente de fósforo. Aminoácidos como el glutamato o ácidos orgánicos como el succinato son fuentes de energía para estos microorganismos. También se ha comprobado que el glicerol producido por algas verdes como *Dunaliella* es una importante fuente de energía para los halófilos, quedando así conectados los metabolismos autotrófico y heterotrófico en los medios hipersalinos (Díaz, 2007).

En comparación con otros microorganismos extremófilos como los termófilos y alcalófilos, los halófilos de los tres dominios han sido poco investigados por su aplicación en procesos biotecnológicos, con excepción de los  $\beta$ -carotenos de *Dunaliella*, bacteriorodopsina de *Halobacterium* y ectoína de *Halomonas*. La biotecnología se enfoca a la producción de solutos compatibles como la ectoína por *Halomonas elongata*; bioplástico del tipo de los poli- $\beta$ -hidroxialcanoatos por *Halomonas boliviensis* y *Haloferax* sp. y producción de enzimas particularmente proteasas y amilasas. Asimismo, los metabolitos secundarios producidos por los halófilos se pueden utilizar para la biorremediación y producción de biodiesel (Ma *et al.*, 2010).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Materiales**

##### **3.1.1 Material biológico**

Raíces con suelo rizosférico de verdolaga, Actinobacterias aisladas de verdolaga y semillas de tomate.

##### **3.1.2 Población y muestra**

En la investigación descriptiva la población estuvo constituida por las plantas de verdolaga (Figura 1) del distrito de Reque y Humedales de Eten en la región Lambayeque y la muestra probabilística por 54 plantas colectadas durante febrero – abril de 2016. El número de muestras fue calculado (Vásquez *et al.*, 2012), tomando en cuenta un prevalencia de 90% (Anexo 1), determinada en un estudio piloto por los investigadores. En la investigación explicativa, la población fueron los cultivos de Actinobacterias aisladas de verdolaga durante febrero – abril de 2016 y la muestra no probabilística y por conveniencia estuvo constituida por 24 cultivos de Actinobacterias seleccionadas.

#### **3.2 Métodos**

##### **3.2.1 Variables de la fase descriptiva**

Variables cuantitativas: Nitrógeno fijado, fósforo solubilizado, indoles producidos.

##### **3.2.2 Variables de la fase explicativa**

Variable independiente: Cultivos (24) de Actinobacterias.

Variable dependiente: Desarrollo vegetativo de plantas de tomate (altura, peso de biomasa aérea y radicular).

### **3.2.3 Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis**

La investigación se realizó en dos fases. La primera fase descriptiva correspondió el aislamiento e identificación de Actinobacterias, cuantificación de nitrógeno fijado, fosfato solubilizado e índoles producidos. En la segunda fase explicativa se determinó el efecto de 24 cultivos de Actinobacterias en la altura y peso de la biomasa aérea y radicular de plantas de tomate, durante 60 días.

La hipótesis en la primera fase se contrastó con el diseño no experimental “Sólo Después” (Vásquez *et al.*, 2012) y en la segunda fase con el diseño experimental completamente aleatorio, DCA. Los tratamientos fueron 25 correspondientes a T1: Testigo absoluto (agua destilada), T2 a T25: Actinobacterias. En cada tratamiento se consideraron tres repeticiones, totalizando 25 unidades experimentales (Figura 2).

### **3.2.4 Lugar de muestreo**

En suelos con problemas de salinidad, reconocidos por su dureza y costras blancas en la superficie (Tena, 2002), en el distrito de Reque y Humedales de Eten, región Lambayeque (Figuras 3,4) se colectaron 54 muestras de raíces con suelo adherido de verdolaga. El distrito de Reque tiene una superficie de 47, 03 Km<sup>2</sup> y se ubica entre los paralelos 06° 52' 00" latitud sur y 79° 49' 27" longitud oeste (Municipalidad de Reque, 2013). Los Humedales de Eten tienen una superficie de 1,7 Km<sup>2</sup> y se ubican entre los paralelos 06° 53' 40" latitud sur y 79° 52' 22" longitud oeste (Municipalidad de Eten, 2012).

### **3.2.5 Obtención de muestras**

Las plantas de verdolaga incluyendo las raíces se extrajeron con ayuda de una palana, se seleccionaron aproximadamente 50 g de raíces y suelo adherido, se depositaron en bolsas de polietileno debidamente identificadas e inmediatamente se transportaron en una caja térmica (10± 1°C) hacia el Laboratorio de Microbiología y Parasitología, sección Biotecnología Microbiana de la Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo en Lambayeque.



**Figura 1.** *Portulaca oleracea* L. en los humedales de Eten, en Lambayeque, 2017.  
Fuente: Elaboración propia

1	6	2	8	5	25	19	7	11	22	12	17	2	16	10	4	15	23	14	21	18	3	9	13	20
---	---	---	---	---	----	----	---	----	----	----	----	---	----	----	---	----	----	----	----	----	---	---	----	----

3	20	2	19	10	23	9	14	24	16	22	25	6	13	11	4	21	15	7	1	12	18	5	17	8
---	----	---	----	----	----	---	----	----	----	----	----	---	----	----	---	----	----	---	---	----	----	---	----	---

7	15	22	11	4	20	6	1	21	17	3	18	13	8	10	24	9	5	16	2	12	19	23	25	22
---	----	----	----	---	----	---	---	----	----	---	----	----	---	----	----	---	---	----	---	----	----	----	----	----

T1 = Testigo absoluto

T2-T25 = Actinobacterias

**Figura 2.** Diseño completamente aleatorio para determinar el efecto de Actinobacterias en el desarrollo vegetativo de *Solanum lycopersicum* L.

Fuente: Elaboración propia





**Figura 3.** Ubicación del distrito de Reque, provincia de Chiclayo, región Lambayeque, febrero, 2016.  
(<https://www.google.com.pe/maps/place/Reque/>)



**Figura 4.** Ubicación de los Humedales de Eten, provincia de Chiclayo, región Lambayeque, febrero, 2016.  
(<https://www.google.com.pe/search?q=humedales+de+eten+mapa>)

En simultáneo al muestreo de raíces con suelo rizosférico, para el aislamiento de bacterias, se colectó una muestra compuesta de la masa radicular de plantas de verdolaga, representativa de 1 kg de suelo para realizar el análisis físico-químico en el Instituto Nacional de Innovación y Extensión Agraria, Estación Experimental Vista Florida de Chiclayo. Según los resultados, el suelo es fuertemente alcalino (pH 9,3), fuertemente salino (CE 19,45 dSm<sup>-1</sup>), con textura arenosa, niveles bajos de materia orgánica (0,3%) y nitrógeno (0,103%) y niveles medios de fósforo disponible (14,6 ppm) y potasio (287,0 ppm).

### **3.2.6 Aislamiento de Actinobacterias**

Las muestras de raíces con suelo adherido se depositaron en bandejas de polietileno, bajo sombra, a temperatura ambiente, por 72 horas (Altamirano *et al.*, 2014). A continuación, se cortaron en fragmentos de aproximadamente 5 cm, aleatoriamente se tomaron submuestras de 10g de raíces junto con el suelo adherido (Figura 5) y se depositaron en frascos de 250 mL de capacidad, conteniendo 90 mL de solución salina esterilizada (NaCl 0,85% p/v). Después de agitar el contenido de los frascos (10<sup>-1</sup>) durante 10 minutos (Figura 6), se tomaron alícuotas y se sembraron mediante la técnica de agotamiento y estría (Purisaca y Quevedo, 2015) en agar avena con antimicótico (Anexo 2). Se incubaron a 30°C, hasta por 7 días y se seleccionaron las colonias típicas de Actinobacterias (Figura 7), tomando en cuenta la textura, coloración del micelo aéreo y de sustrato, forma y tamaño de las colonias y los pigmentos producidos (Franco, 2008). Las colonias desarrolladas se agruparon según sus características y se seleccionó una representativa de cada grupo para su posterior siembra en agar avena, constituyendo los aislados de Actinobacterias.

Para la identificación morfológica de las Actinobacterias (Franco, 2008), se observaron las colonias desarrolladas en agar avena durante 5 días (Figuras 8, 9, 10) y se diferenciaron la textura, coloración del micelo aéreo y de sustrato en el medio de medio de cultivo. Para la caracterización microscópica las diferentes colonias de Actinobacterias se sembraron en agar avena y en la zona central se introdujo una lámina cubreobjetos previamente esterilizada, dispuesta con una inclinación de 45°, respecto a la superficie del agar (Figuras 11, 12). Se incubaron a 30°C, por 5 días y después se retiraron los cubreobjetos y se colocaron sobre una lámina portaobjetos con una gota de cristal violeta (Figura 13), para la identificación de los géneros por la morfología del micelo de sustrato y las características del micelo aéreo, como la fragmentación, presencia de esporangios y morfología de los esporóforos.



**Figura 5.** Muestras de raíces con suelo rizosférico de *Portulaca oleracea* L.  
Fuente: Elaboración propia

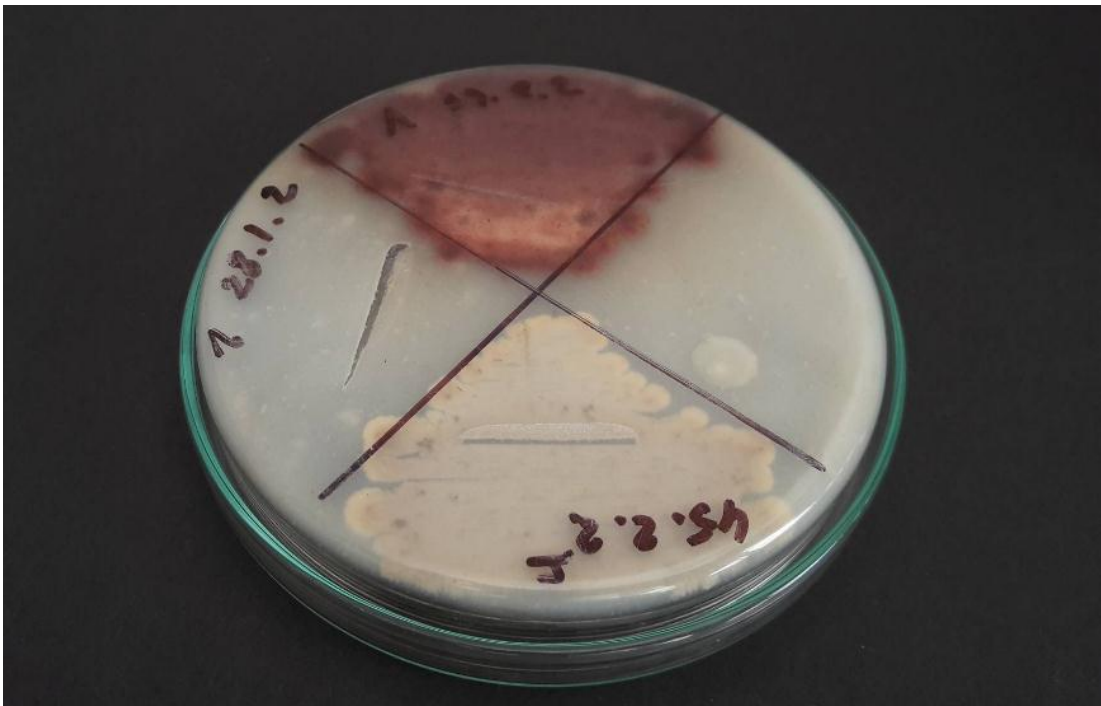


**Figura 6.** Suspensión de raíces y suelo rizosférico de *Portulaca oleracea* L. en solución salina esterilizada.  
Fuente: Elaboración propia

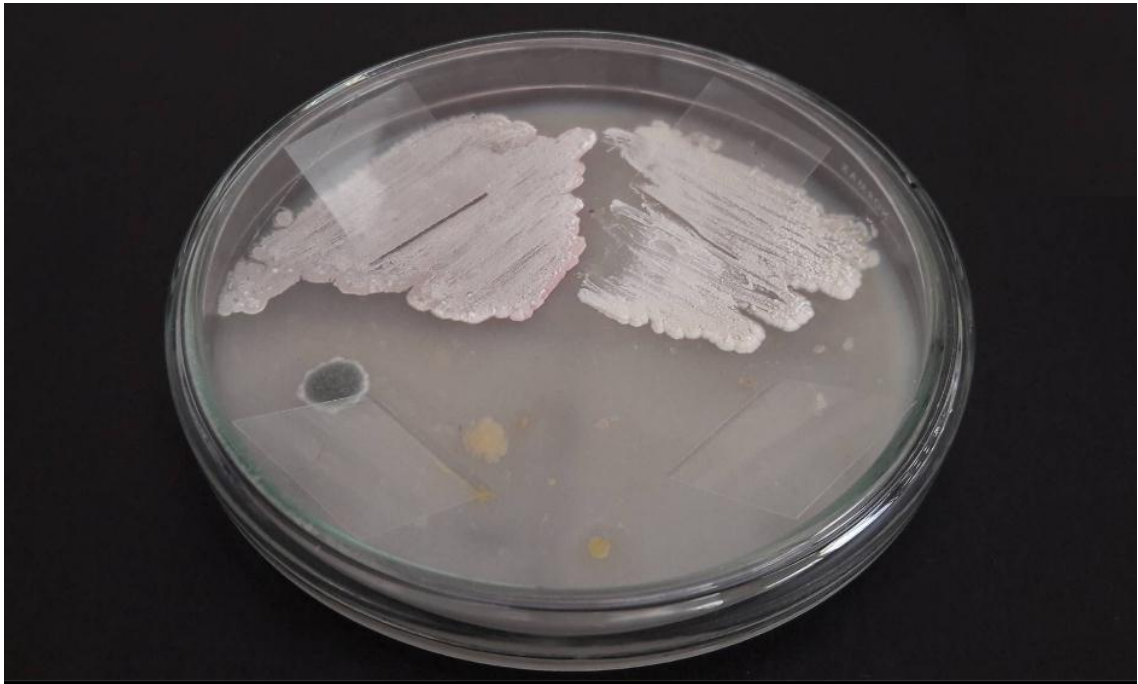




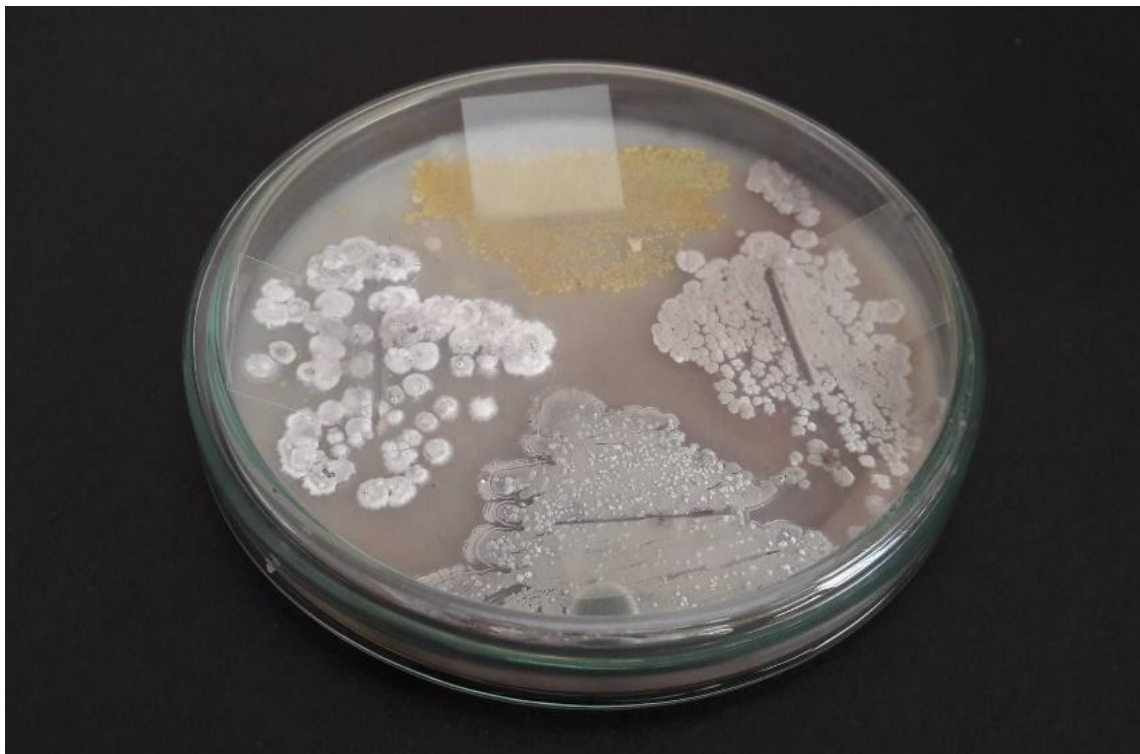
**Figura 7.** Colonias de Actinobacterias desarrolladas en agar avena.  
Fuente: Elaboración propia



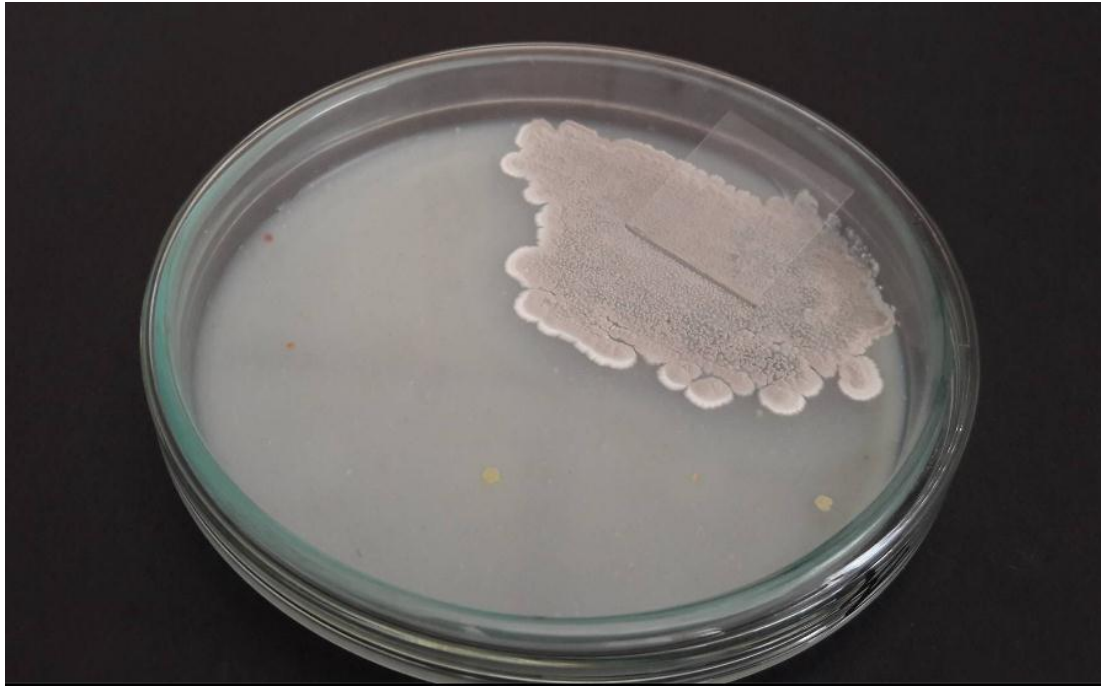
**Figura 8.** Colonias de Actinobacterias nativas con micelo de sustrato pigmentado.  
Fuente: Elaboración propia



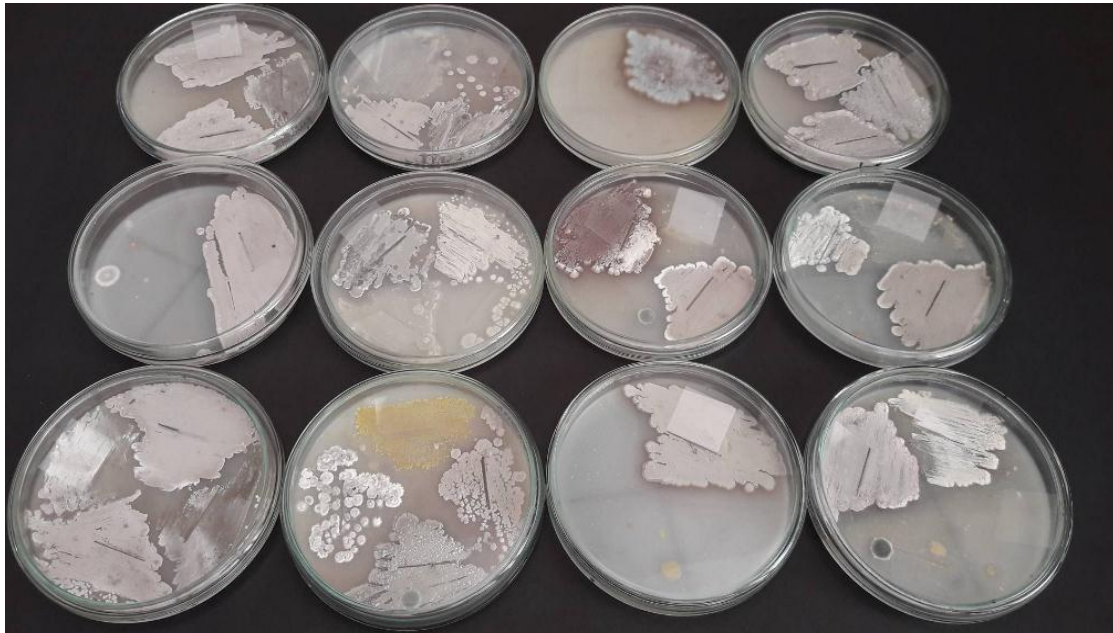
**Figura 9.** Colonias de Actinobacterias con micelo aéreo no pigmentado.  
Fuente: Elaboración propia



**Figura 10.** Colonias de Actinobacterias con micelo aéreo pigmentado.  
Fuente: Elaboración propia

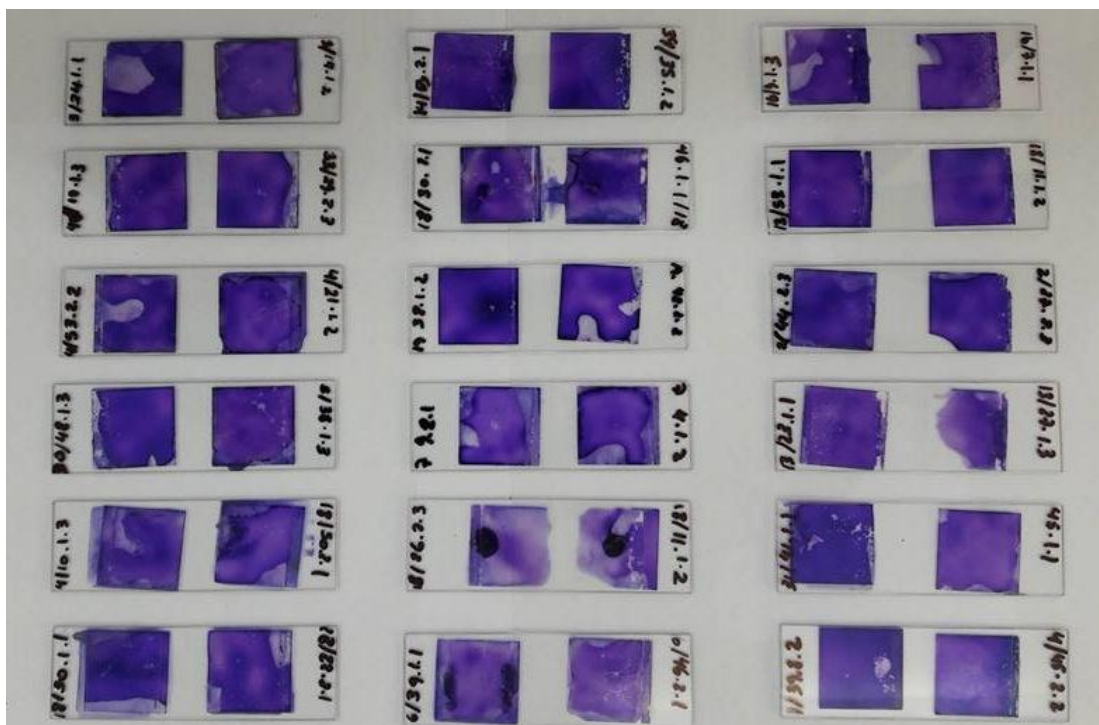


**Figura 11.** Lámina cubreobjetos dispuesta con una inclinación de 45°C.  
Fuente: Elaboración propia



**Figura 12.** Colonias de Actinobacterias después de 5 días de incubación en agar avena.  
Fuente: Elaboración propia





**Figura 13.** Láminas portaobjetos con láminas cubreobjetos listas para la observación microscópica de Actinobacterias.

Fuente: Elaboración propia

### 3.2.7 Mantenimiento de cultivos de Actinobacterias

Los cultivos puros de Actinobacterias identificados se sembraron en agar avena y se mantuvieron a temperatura ambiente (28°C) y refrigeración (8°C), respectivamente, realizándose subcultivos cada 30 días.

### 3.2.8 Cuantificación de nitrógeno fijado, fosfato solubilizado e indoles producidos

Con las Actinobacterias aisladas e identificadas se cuantificó el amonio, producto de la fijación de nitrógeno, el fósforo soluble producto de la solubilización de fosfatos y los indoles producidos. Para la obtención del inóculo, cada bacteria se cultivó en 5 mL de caldo nutritivo a 30°C, durante 5 días (Córdova, 2016). Posteriormente el caldo se centrifugó (3500 rpm) durante 5 minutos, el sobrenadante se eliminó, el sedimento se lavó en solución salina esterilizada (NaCl 0,85% p/v) y su concentración se estandarizó a  $10^7 - 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup> en el espectrofotómetro de luz visible (Densidad óptica a 600 nanómetros).

#### a. Cuantificación del nitrógeno fijado *in vitro*

La cuantificación de amonio producto de la fijación de nitrógeno *in vitro* por las bacterias investigadas se realizó con el método colorimétrico de Berthelot o fenol hipoclorito (Lara *et al.*, 2007; Cadena y Martínez, 2011). El inóculo (5%: 0,15 mL) de cada cultivo bacteriano se sembró por triplicado en tubos de 15x150 mL conteniendo 3 mL de caldo extracto de suelo 10% (Figura 14, anexo 3) y se incubaron a 30°C, con agitación constante a 150 rpm, por 8 días. A continuación, se agregaron 9 mL de KCl 2M, se agitaron a 150 rpm durante 1 hora y se dejaron en reposo por 1 hora adicional, para después tomar 10 mL de sobrenadante y centrifugarlos (3000 rpm) durante 5 minutos.

Los sobrenadantes se vertieron en tubos de dilución, se añadieron 0,4 mL de solución alcohólica de fenol al 10%; 0,4 mL de nitroprusiato de sodio al 0,5% y 1 mL de solución oxidante. Los tubos se agitaron manualmente por 2 minutos y se dejaron en reposo durante 1 hora adicional. La reacción se consideró positiva a la fijación de nitrógeno por la aparición de una coloración azul, leyéndose la absorbancia en espectrofotómetro de luz visible a 632,9 nm. Las concentraciones de amonio se calcularon con la ecuación de la curva de calibración, obtenida previamente con diluciones sucesivas de una solución de 100 ppm de cloruro de amonio (Anexo 3).





**Figura 14.** Caldo extracto de suelo cultivado con Actinobacterias.

Fuente: Elaboración propia

#### **a. Cuantificación de fosfato solubilizado *in vitro***

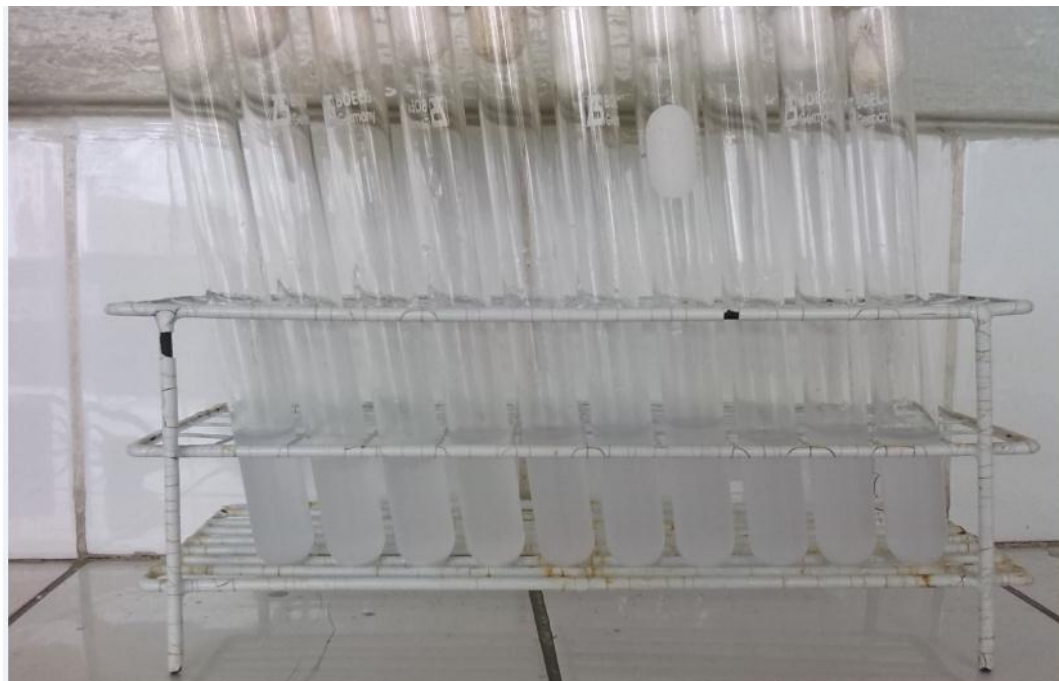
La cuantificación del fósforo producto de la solubilización de fosfato *in vitro* por las bacterias investigadas se realizó con el método colorimétrico de molibdato (Alvarado y Valderrama, 2014). El inóculo (5%: 0,25 mL) de cada cultivo bacteriano se sembró por triplicado en 5 mL de caldo National Botanical Research Institute's Phosphate NBRIP (Figura 15, anexo 4) y se incubaron a 30°C, con agitación constante a 150 rpm, por 14 días. Después, los caldos se centrifugaron (3000 rpm) durante 5 minutos y en el sobrenadante se cuantificó el fósforo soluble (Rodier y Rodi, 2005), considerándose una coloración azul positiva a la solubilización del fosfato. La absorbancia se leyó en espectrofotómetro de luz visible a 690 nm y las concentraciones de fósforo soluble se calcularon con la ecuación de la curva de calibración obtenida previamente con diluciones sucesivas de una solución de 2 ppm de fósforo (Anexo 4).

#### **b. Cuantificación de indoles producidos *in vitro***

La cuantificación de indoles producidos *in vitro* se realizó según la reacción colorimétrica de Salkowski (Mantilla, 2007; García y Muñoz, 2010). El inóculo (5%: 0,25 mL) de cada cultivo bacteriano fue sembrado por triplicado en 5 mL de caldo tripticasa soya suplementado con triptófano (Figura 16, anexo 5). Después de la incubación a 30°C, con agitación constante a 150rpm, por 8 días, los cultivos se centrifugaron a 3000 rpm, durante 5 minutos. A continuación 0,4 mL de cada sobrenadante se depositaron en tubos, se agregaron 1,6 mL del reactivo de Salkowski modificado (relación 1:4), se mezclaron y se dejaron en reposo durante 30 minutos, en oscuridad. La reacción se consideró positiva a la producción de indoles por la aparición de una coloración grosella, leyéndose la absorbancia en espectrofotómetro de luz visible a 530 nm. Las concentraciones de indoles se calcularon con la ecuación de curva de la calibración, obtenida previamente con diluciones sucesivas de una solución 100 ppm de ácido indolacético.

#### **3.2.9 Tolerancia de las Actinobacterias al cloruro de sodio**

Las Actinobacterias fueron cultivadas en caldo nutritivo (Figura 17) con 5% NaCl (p/v), a 30°C, durante 96 horas. El crecimiento bacteriano fue denotado por la formación de una película superficial, procediéndose inmediatamente al cultivo en caldo nutritivo con 10% NaCl (p/v), considerándose las bacterias tolerantes por el crecimiento observado. Este criterio junto a los mayores valores en la concentración de amonio, fósforo soluble e indoles fueron considerados para la selección de las Actinobacterias.



**Figura 15.** Caldo National Botanical Research Institute's phosphate cultivado con Actinobacterias.  
Fuente: Elaboración propia



**Figura 16.** Caldo tripticasa soya suplementado con triptófano cultivado con Actinobacterias.  
Fuente: Elaboración propia



**Figura 17.** Caldo nutritivo cultivado con Actinobacterias.  
Fuente: Elaboración propia

### **3.2.10 Efecto de Actinobacterias en el desarrollo vegetativo de tomate**

Los 24 cultivos de Actinobacterias seleccionadas (Figura 18) se inocularon en semillas de tomate, determinándose la altura y biomasa aérea y radicular después de 60 días, en condiciones de invernadero. El suelo experimental estuvo constituido por 28,5 kg de una mezcla de suelo de la masa radicular de verdolaga, arena de río y humus en una proporción 1:1:2 (CE: 8,1 dSm<sup>-1</sup>) que fueron distribuidos en 75 vasos de tecnopor de 0,5 L de capacidad, a razón de 0,49 kg por vaso, totalizando 36,7 kg.

El cultivo de tomate y la inoculación de las bacterias se realizó entre el 27 de julio al 24 de setiembre de 2016, registrándose las temperaturas máxima (26°C), mínima (18°C) y media (22°C), valores obtenidos por la Estación Meteorológica de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, ubicada en el fundo “El Ciénago” de Lambayeque (Anexo 6).

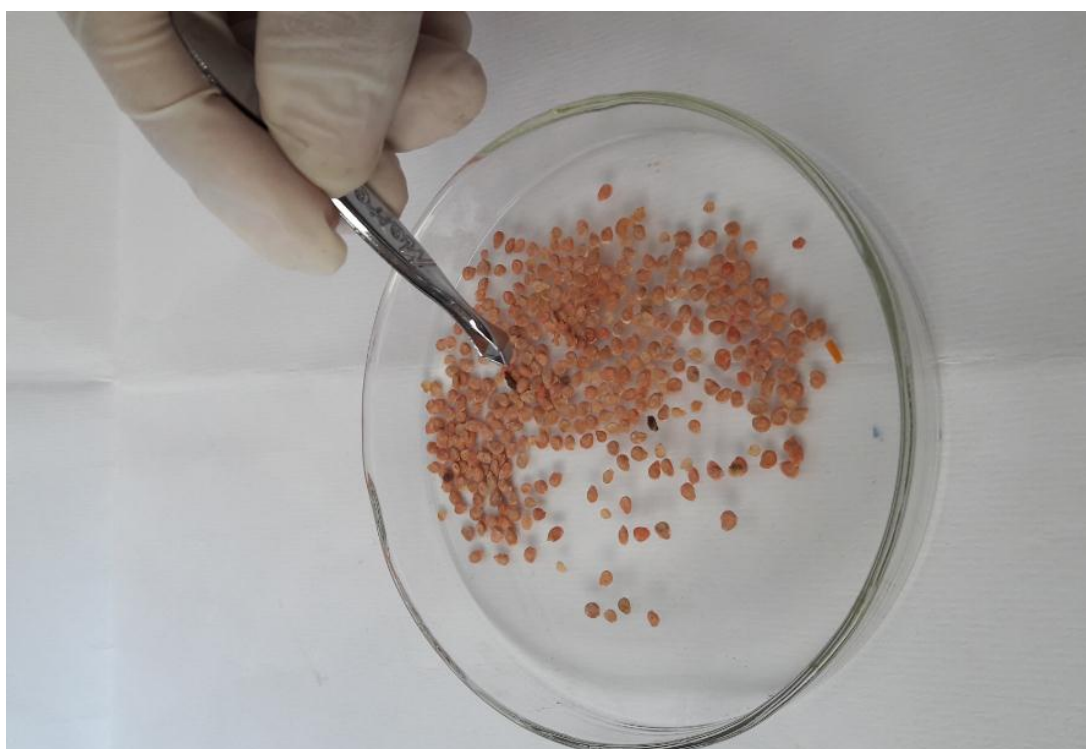
En el ensayo se sembraron semillas de tomate cultivar Río Grande (Figura 19), comercializadas luego de ser tratadas con el fungicida Tiofanate metil Tiram (Homai WP), en las dosis de 2g kg<sup>-1</sup> de semilla. Las plantas son de maduración media a tardía, con crecimiento determinado y buen follaje, un tamaño de fruto de aproximadamente 4 cm y un peso máximo de 140 g (Ríos y Zúniga, 2012).

El porcentaje de germinación de las semillas de tomate se determinó en cinco placas de Petri, en cuyo fondo se colocó papel filtro, humedecido con agua destilada esterilizada y con ayuda de pinzas esterilizadas se depositaron 20 semillas de tomate por placa (Figura 20). Las placas de Petri se taparon y se mantuvieron a una temperatura de 30°C, humedeciéndolas diariamente hasta observar el máximo de germinación que fue 98% después de 5 días.

El inóculo fue obtenido con las bacterias cultivadas en caldo nutritivo, a 30°C, durante 5 días y después de la centrifugación se obtuvieron 2 mL de una suspensión de células de cada cultivo bacteriano seleccionado (Figura 21), cuya concentración se estandarizó a 10<sup>7</sup> – 10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup> en el espectrofotómetro de luz visible (Densidad óptica a 600 nanómetros).

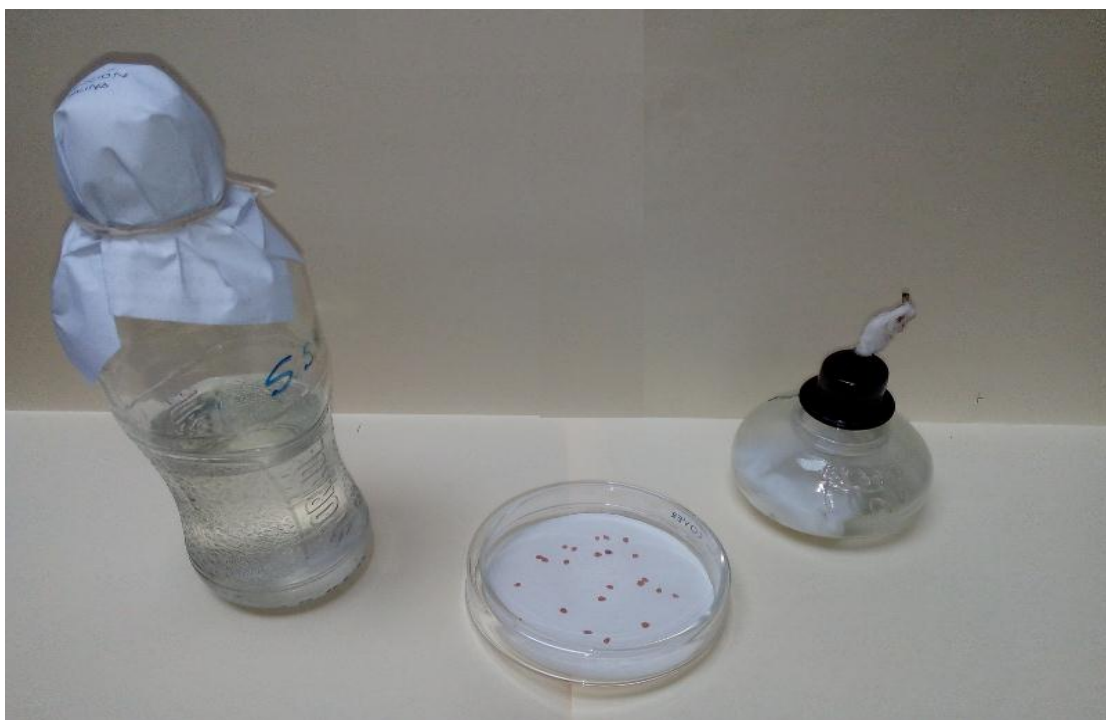


**Figura 18.** Cultivos puros de Actinobacterias seleccionados.  
Fuente: Elaboración propia



**Figura 19.** Semillas de *Solanum lycopersicum* L.  
Fuente: Elaboración propia





**Figura 20.** Prueba de germinación de semillas de *Solanum lycopersicum* L.  
Fuente: Elaboración propia



**Figura 21.** Inóculo de Actinobacterias.  
Fuente: Elaboración propia

En 25 bolsas de polietileno transparentes de 2,5x8,0 cm se depositaron 12 semillas de tomate por bolsa. En 24 bolsas se inoculó 0,1 mL de la suspensión bacteriana (Figura 22), correspondiente por bolsa, equivalente a 35 mL kg<sup>-1</sup> de semilla y en una bolsa se aplicó agua destilada (testigo). El contenido de las bolsas fue homogenizado para que las bacterias se distribuyan uniformemente en las semillas y después las bolsas se llevaron hacia la estufa a 30°C, durante 30 minutos para disminuir el exceso de humedad (Figura 23). Las semillas se sembraron en el suelo experimental, a razón de tres semillas por vaso y se realizaron los riegos correspondientes, con agua decolorada, según los requerimientos de las plantas (Figura 24).

Después de los 8 días de la siembra, se eliminó la plántula menos vigorosa en cada vaso, quedando dos por tratamiento. A los 30, 45 y 60 días se midió la altura de las plantas y a los 60 días se determinó el peso de la biomasa seca de la parte aérea y radicular. La altura se expresó en cm, considerando desde la base del tallo, hasta la yema terminal de la hoja. A continuación, se cortó la parte aérea de cada una de las plantas, a ras del suelo y junto con la raíz y suelo adherido se depositaron en bandejas de plástico. Para determinar el peso de la materia seca, tanto la raíz previamente lavada como la biomasa aérea se deshidrataron en el horno a 70°C hasta alcanzar peso constante (Puicón, 2014). El peso de la biomasa se determinó en una balanza de precisión y con los valores obtenidos, se calculó el índice de efectividad de inoculación (IEI) en porcentaje, mediante la fórmula (Carreño, 2009) siguiente:

$$IEI (\%) = \frac{\text{Tratamiento con inoculación} - \text{Control sin inoculación}}{\text{Control sin inoculación}} \times 100$$





**Figura 22.** Inoculación de Actinobacterias en semillas de *Solanum lycopersicum* L.  
Fuente: Elaboración propia



**Figura 23.** Semillas de *Solanum lycopersicum* L. inoculadas con Actinobacterias.  
Fuente: Elaboración propia



**Figura 24.** Suelo experimental en vasos de tecnopor.  
Fuente: Elaboración propia

### 3.2.11 Análisis estadístico de los datos

Para el diseño experimental completamente aleatorio, el modelo aditivo lineal fue:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = observación de i-ésimo tratamiento, j-ésima repetición

$\mu$  = media general de la variable respuesta

$\tau_i$  = efecto i-ésimo tratamiento, siendo  $i = 1, 2, 3, 4, 5, \dots, 25$

$\epsilon_{ij}$  = error experimental en el i-ésimo tratamiento, j-ésima repetición

$$H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 \dots = \mu_{25}$$

$H_a$  = Al menos una media diferente

Los valores de altura y biomasa aérea y radicular de las plantas de tomate fueron ordenados en tablas y se les realizó las pruebas de normalidad y homogeneidad de varianza. El análisis de varianza determinó las diferencias entre tratamientos y la prueba de comparaciones múltiples de Tukey, la superioridad entre ellos, utilizándose el software estadístico SPSS versión 15,0 así como los programas de Microsoft Office Word, Excel versión 2007 y Minitab 2015.

## IV. RESULTADOS

### 4.1 Actinobacterias aisladas e identificadas en *Portulaca oleracea* L.

En el 100% (96) de las muestras de raíces y suelo rizosférico de verdolaga se aislaron Actinobacterias, que desarrollaron en agar avena (Figura 25). Se obtuvieron 204 cultivos puros agrupados en 34 morfotipos de colonias, según el color del micelio aéreo, micelio de sustrato, pigmento difusible en el medio de cultivo y características microscópicas (Figura 26, tablas 1,2), identificándose *Streptomyces* (45,1%), *Nocardiopsis* (21,1%), *Nocardia* (16,7%), *Pseudonocardia* (11,8%), *Saccharopolyspora* (3,4%) y *Nocardioides* (1,9%).

El género *Streptomyces* se reconoció por el micelio aéreo con esporóforos no espiralados y espiralados (Figura 27). En estos últimos se observaron espirales primitivos, abiertos y cerrados. Los géneros *Nocardiopsis* y *Nocardioides* presentaron el micelio de sustrato fragmentado en elementos cocoides y bastoncillos, diferenciándose en el micelio aéreo con largas cadenas de esporas en *Nocardiopsis* y poco desarrollado y poco o nada ramificado en *Nocardioides*. En *Nocardia* se observó el micelio de sustrato con tendencia a fragmentarse en bacilos y elementos cocoides y un micelio aéreo que puede originar cadenas de esporas (Figura 28). *Pseudonocardia* se reconoció por el micelio de sustrato no fragmentado y el micelio aéreo no ramificado ni fragmentado con largas cadenas de esporas (Figura 29) y *Saccharopolyspora* por el micelio de sustrato bien desarrollado y el micelio aéreo segmentado en cadenas de esporas contenidas en una envoltura (Figura 30).





**Figura 25.** Colonias de Actinobacterias desarrolladas en agar avena.  
Fuente: Elaboración propia



**Figura 26.** Cultivos puros de Actinobacterias en agar avena.  
Fuente: Elaboración propia

**Tabla 1.** Frecuencia de morfotipos de colonias de Actinobacterias aisladas de raíces y suelo rizosférico de *Portulaca oleracea* L. en Lambayeque, 2017

Morfotipo	Micelo			Observación microscópica	%
	Aéreo	Sustrato	Pigmento difusible		
1	Blanco	No pigmentado	No	Espirales abiertos	10,8
2	Gris	Marrón	No	Micelio en fragmentación	9,3
3	Gris	Marrón	No	Espirales primitivos	7,8
4	Gris	Verde claro	No	Espirales abiertos	6,9
5	Blanco	No pigmentado	No	Cadena de esporas	6,4
6	Gris	No pigmentado	No	Espirales abiertos	6,4
7	Crema	No pigmentado	No	Micelo fragmentado y cadena de esporas.	5,9
8	Gris	Crema	No	Espirales abiertos	4,4
9	Blanco	Anaranjado	No	Espirales cerrados	3,9
10	Gris	Marrón	No	Micelo fragmentado y cadena de esporas.	3,4
11	Crema	No pigmentado	No	Micelo fragmentado y cadena de esporas.	3,4
12	Gris	Verde	No	Cadena de esporas	2,9
13	Blanco	No pigmentado	No	No espiralado	2,9
14	Blanco	No pigmentado	No	Micelo fragmentado y cadena de esporas.	2,9
15	Gris	Rosado	No	Micelio no fragmentado y cadena de esporas.	2,4
16	Blanco	No pigmentado	No	Espirales primitivos	2,0
17	Blanco	Negro	Sí	Micelio en fragmentación	2,0
18	Gris	Rosado	Sí	Micelio fragmentado	1,9
19	Blanco	Rojo	No	Micelo fragmentado y cadena de esporas.	1,5
20	Blanco	No pigmentado	No	Micelio en fragmentación	1,5
21	Marrón	No pigmentado	No	Micelio en fragmentación	1,4

Continuación...

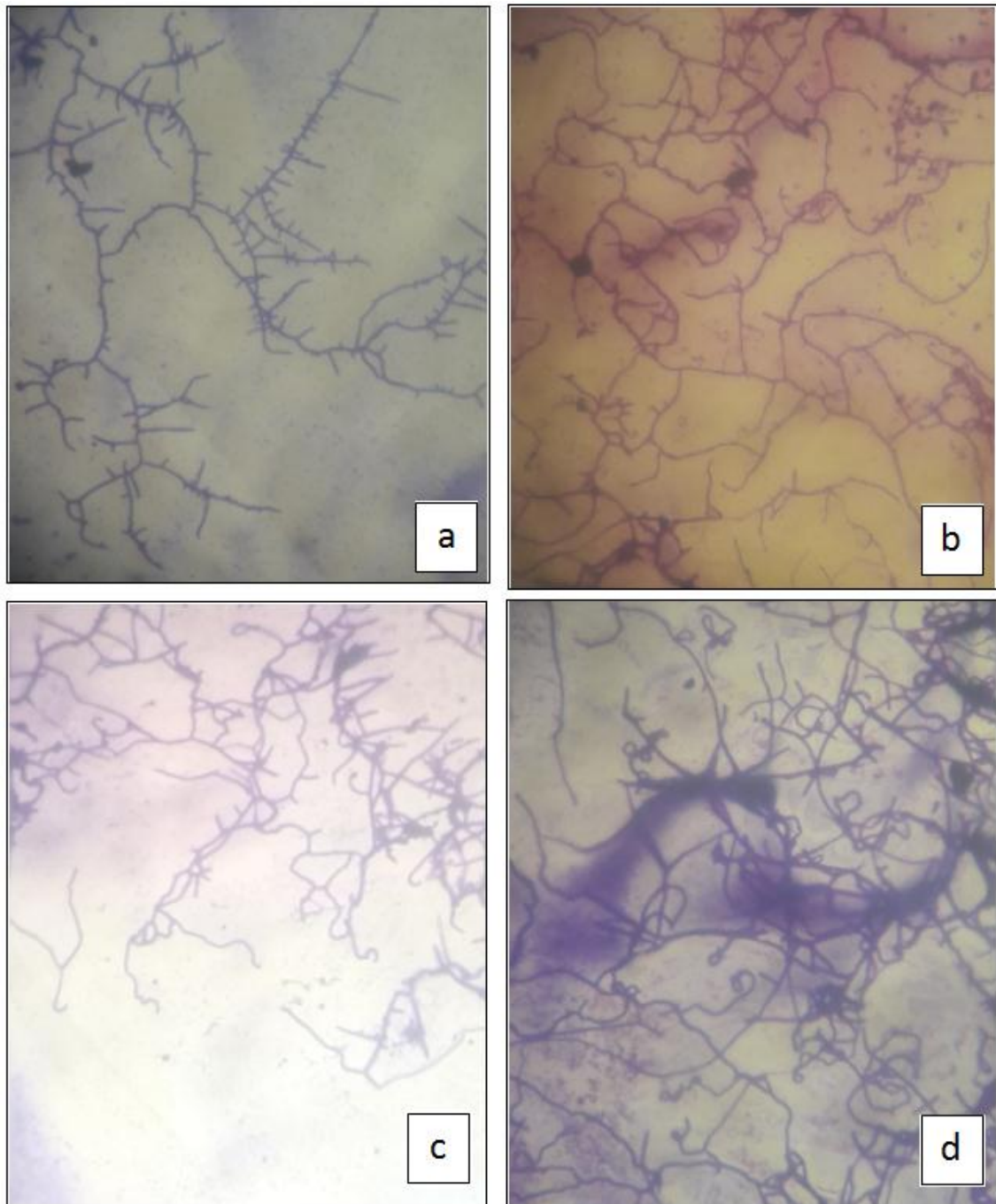
Morfortipo	Micelo		Pigmento difusible	Observación microscópica	%
	Aéreo	Sustrato			
22	Gris	No pigmentado	Sí	Micelo fragmentado y cadena de esporas.	1,0
23	Gris	Negro	No	Cadena de esporas	1,0
24	Marrón	Negro	No	Cadena de esporas	1,0
25	Negro	No pigmentado	No	Micelio no fragmentado y cadena de esporas.	1,0
26	Blanco	Anaranjado	Sí	Micelio en fragmentación	1,0
27	Marrón	Negro	No	Micelo fragmentado y cadena de esporas.	1,0
28	Gris	No pigmentado	No	Micelio en fragmentación	1,0
29	Marrón	Negro	Sí	Micelo fragmentado y cadena de esporas.	0,5
30	Granate	No pigmentado	Sí	Cadena de esporas	0,5
31	Verde Oscuro	Marrón	Sí	Micelo fragmentado y cadena de esporas.	0,5
32	Granate	No pigmentado	No	Micelio en fragmentación	0,5
33	Gris	Amarillo	Sí	Micelo fragmentado y cadena de esporas.	0,5
34	Blanco	Rosado	Sí	Micelo fragmentado y cadena de esporas.	0,5

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 2.** Frecuencia de géneros identificados en Actinobacterias aislados de raíces y suelo rizosférico de *Portulaca oleracea* L. en Lambayeque, 2017

Género	Cultivos puros	
	Número	%
<i>Streptomyces</i>	92	45,1
<i>Nocardiopsis</i>	43	21,1
<i>Nocardia</i>	34	16,7
<i>Pseudonocardia</i>	24	11,8
<i>Saccharopolyspora</i>	7	3,4
<i>Nocardioides</i>	4	1,9

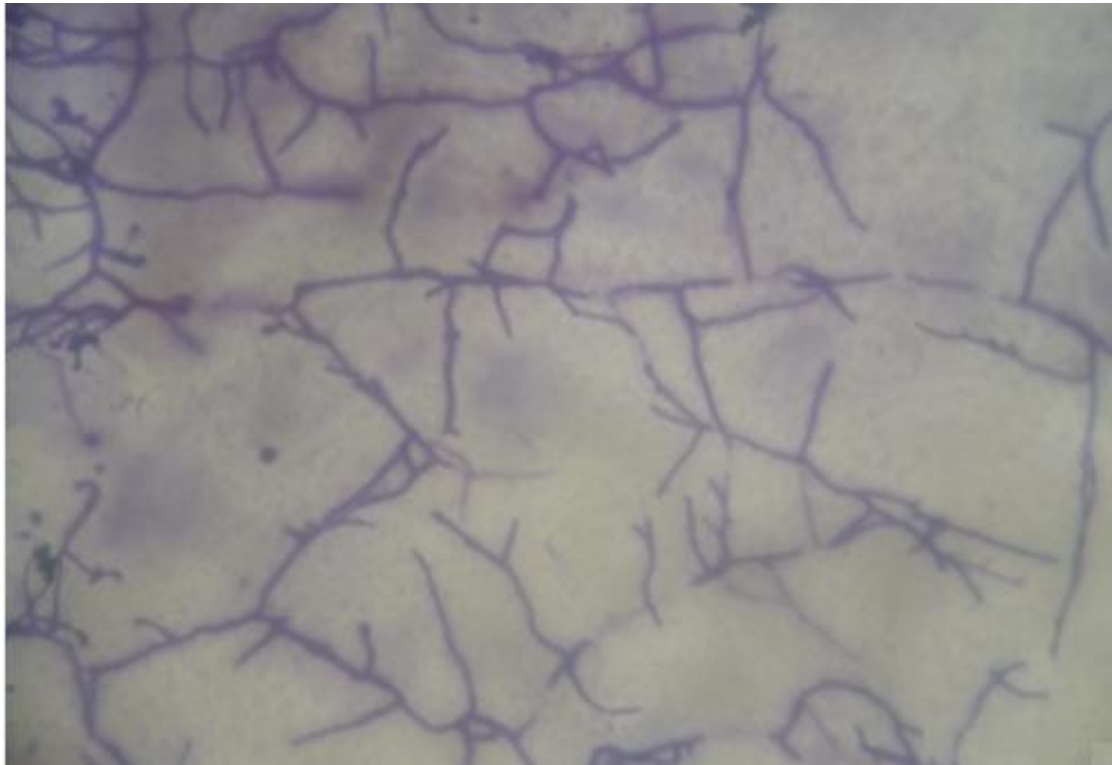
Fuente: Elaboración propia



**Figura 27.** Observación microscópica de esporóforos de *Streptomyces* sp. no espiralados (a), espirales primitivos (b), espirales abiertos (c), espirales cerrados (d).

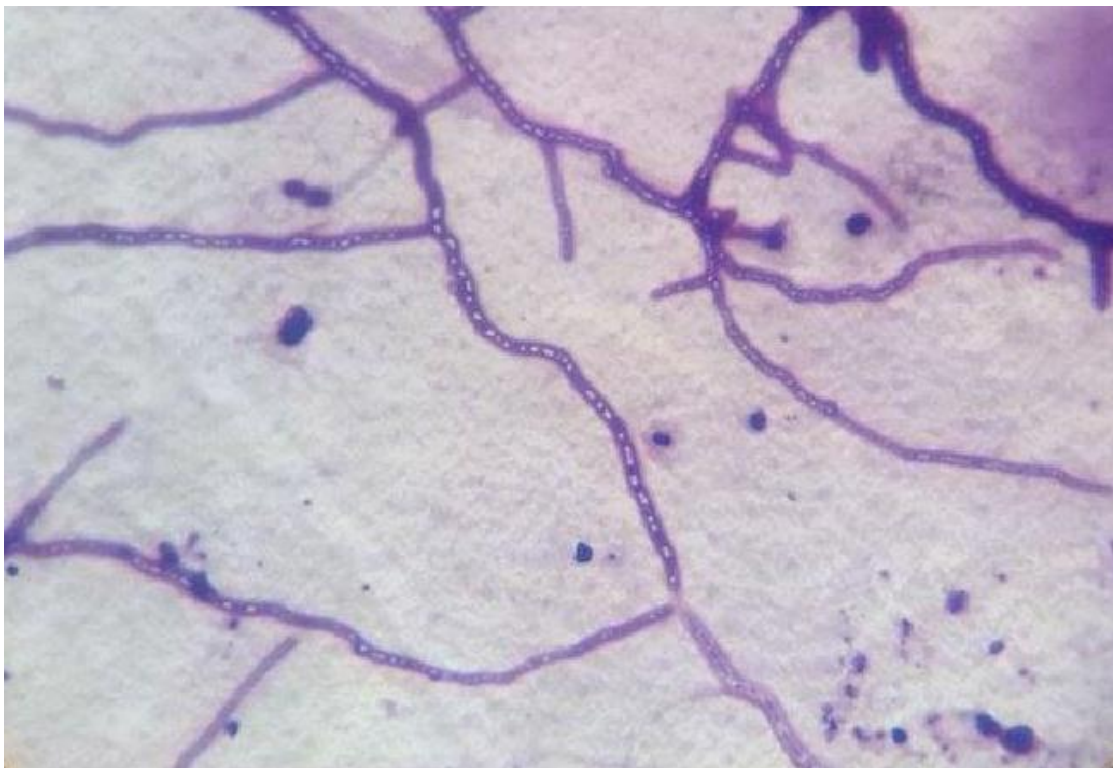
Fuente: Elaboración propia





**Figura 28.** Observación microscópica de *Nocardia* sp.

Fuente: Elaboración propia



**Figura 29.** Observación microscópica de *Pseudonocardia* sp.

Fuente: Elaboración propia



**Figura 30.** Observación microscópica de *Saccharopolyspora* sp.  
Fuente: Elaboración propia

#### **4.2 Nitrógeno fijado, fosfato solubilizado e indoles producidos por Actinobacterias**

El 100% (204) de cultivos de Actinobacterias fijaron nitrógeno *in vitro* y como producto de la fijación se detectó amonio, evidenciado por una coloración azul (Figura 31). Con cada género identificado en las Actinobacterias rizosféricas (Tabla 3) las concentraciones máximas de amonio fueron: 36,3 ppm (*Streptomyces* sp.54.1.2); 36,0 ppm (*Pseudonocardia* sp.46.1.1); 35,1 ppm (*Nocardia* sp.54.2.1); 34,0 ppm (*Nocardiopsis* sp.11.1.2), 33,5 ppm (*Saccharopolyspora* sp.4.1.9) y 18,7 ppm (*Nocardioides* sp.47.1.4).

El 100% (204) de cultivos de Actinobacterias solubilizaron fosfato *in vitro* y como producto de la solubilización se detectó fósforo soluble, evidenciado por una coloración azul (Figura 32). Con cada género identificado en las Actinobacterias (Tabla 4), las concentraciones máximas de fósforo soluble fueron: 32,7 ppm (*Streptomyces* sp.22.2.1); 26,5 ppm (*Nocardia* sp.34.2.2); 25,6 ppm (*Saccharopolyspora* sp.9.2.1); 21,2 ppm (*Nocardiopsis* sp.23.2.1), 19,8 ppm (*Pseudonocardia* sp.39.2.1) y 19,6 ppm (*Nocardioides* sp.47.1.4).

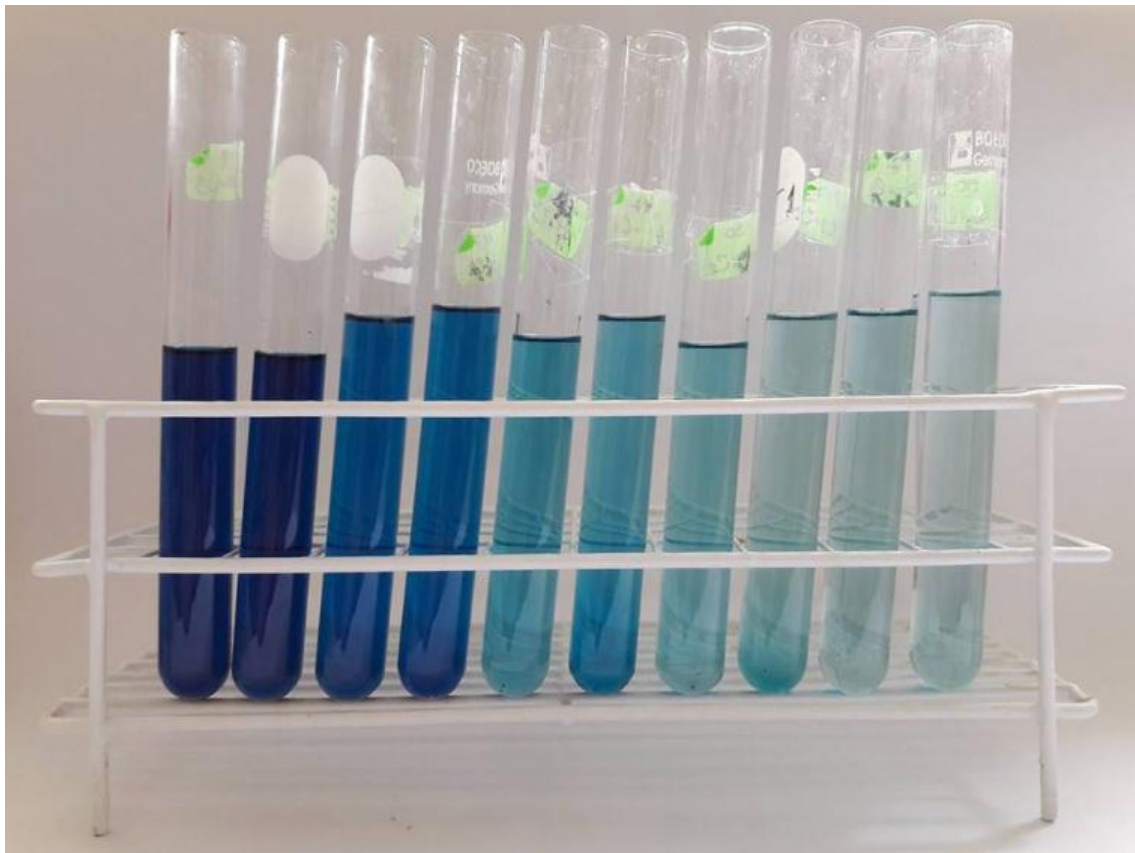
El 100% (204) de cultivos de Actinobacterias produjeron indoles *in vitro*, evidenciados por una coloración grosella (Figura 33). Con cada género identificado en las Actinobacterias (Tabla 5) las concentraciones máximas de indoles producidos fueron: 80,3 ppm (*Nocardia* sp.54.2.1); 77,6 ppm (*Streptomyces* sp.41.2.1); 74,4 ppm (*Pseudonocardia* sp.29.1.1); 68,9 ppm (*Nocardiopsis* sp.38.1.1); 67,1 ppm (*Nocardioides* sp.47.1.4) y 51,1 ppm (*Saccharopolyspora* sp.4.1.2).

#### **4.3 Tolerancia de las Actinobacterias a diferentes concentraciones de cloruro de sodio**

El 28,9% (59) de cultivos de Actinobacterias toleraron una concentración de 5% de cloruro de sodio (Figuras 34, 35) y el 17,2% (35) toleraron 10% de cloruro de sodio (Figuras 36, 37).

#### **4.4 Actinobacterias seleccionadas**

Los 24 cultivos de Actinobacterias que toleraron 10% de cloruro de sodio y alcanzaron los mayores valores en la concentración de amonio, fósforo soluble e indoles, fueron seleccionados para determinar el efecto en el desarrollo vegetativo de *Solanum lycopersicum* L. (Tabla 6).



**Figura 31.** Coloración observada en la cuantificación de amonio.

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 3.** Nitrógeno fijado como amonio (ppm) por Actinobacterias aisladas de raíces y suelo rizosférico de *Portulaca oleracea* L.

Actinobacterias código UNPRG	Amonio (ppm)	Actinobacterias código UNPRG	Amonio (ppm)
<i>Streptomyces</i> sp. 54.1.2	36,3	<i>Streptomyces</i> sp. 6.1.3	29,6
<i>Streptomyces</i> sp. 48.1.1	36,2	<i>Saccharopolyspora</i> sp. 9.2.1	29,4
<i>Streptomyces</i> sp. 48.1.3	36,1	<i>Streptomyces</i> sp. 41.2.1	26,9
<i>Streptomyces</i> sp. 46.2.1	36,1	<i>Nocardia</i> sp. 10.1.2	21,5
<i>Pseudonocardia</i> sp. 46.1.1	36,0	<i>Streptomyces</i> sp. 11.1.1	21,1
<i>Pseudonocardia</i> sp. 4.2.1	35,0	<i>Streptomyces</i> sp. 3.2.3	19,5
<i>Streptomyces</i> sp. 49.2.1	35,9	<i>Nocardioides</i> sp. 47.1.4	18,7
<i>Streptomyces</i> sp. 12.2.2	35,6	<i>Pseudonocardia</i> sp. 5.1.2	9,6
<i>Streptomyces</i> sp. 45.1.1	35,4	<i>Streptomyces</i> sp. 33.2.1	9,6
<i>Streptomyces</i> sp. 45.1.2	35,1	<i>Streptomyces</i> sp. 39.1.1	8,4
<i>Nocardia</i> sp. 54.2.1	35,1	<i>Nocardioides</i> sp. 33.2.2	8,1
<i>Streptomyces</i> sp. 22.1.2	35,0	<i>Streptomyces</i> sp. 27.2.3	8,0
<i>Streptomyces</i> sp. 10.1.3	34,7	<i>Nocardia</i> sp. 37.1.2	7,5
<i>Streptomyces</i> sp. 52.2.1	34,6	<i>Pseudonocardia</i> sp. 36.2.3	7,1
<i>Streptomyces</i> sp. 45.2.2	34,3	<i>Pseudonocardia</i> sp. 28.1.1	6,8
<i>Streptomyces</i> sp. 50.2.3	34,3	<i>Streptomyces</i> sp. 31.1.1	6,7
<i>Nocardiopsis</i> sp. 11.1.2	34,0	<i>Streptomyces</i> sp. 47.2.1	6,6
<i>Pseudonocardia</i> sp. 12.2.3	33,9	<i>Streptomyces</i> sp. 2.1.1	6,5
<i>Streptomyces</i> sp. 42.2.2	33,9	<i>Pseudonocardia</i> sp. 28.2.4	6,2
<i>Streptomyces</i> sp. 7.1.1	33,7	<i>Streptomyces</i> sp. 12.2.1	5,8
<i>Streptomyces</i> sp. 40.2.2	33,7	<i>Streptomyces</i> sp. 13.2.1	5,8
<i>Saccharopolyspora</i> sp. 4.1.2	33,5	<i>Streptomyces</i> sp. 6.1.4	5,7
<i>Streptomyces</i> sp. 53.1.1	33,4	<i>Pseudonocardia</i> sp. 31.1.2	5,7
<i>Streptomyces</i> sp. 8.1.4	32,9	<i>Streptomyces</i> sp. 34.1.1	5,5
<i>Nocardia</i> sp. 41.1.1	32,8	<i>Streptomyces</i> sp. 24.1.1	5,2
<i>Streptomyces</i> sp. 45.2.1	32,8	<i>Pseudonocardia</i> sp. 30.1.1	5,2
<i>Streptomyces</i> sp. 8.2.1	32,7	<i>Streptomyces</i> sp. 29.2.3	5,1
<i>Streptomyces</i> sp. 43.1.1	32,6	<i>Streptomyces</i> sp. 30.1.3	5,1
<i>Streptomyces</i> sp. 53.2.2	32,0	<i>Streptomyces</i> sp. 35.1.2	5,3
<i>Nocardia</i> sp. 34.2.2	31,9	<i>Streptomyces</i> sp. 39.1.2	5,3
<i>Streptomyces</i> sp. 5.1.3	31,9	<i>Pseudonocardia</i> sp. 50.2.1	5,3
<i>Streptomyces</i> sp. 9.2.2	31,8	<i>Pseudonocardia</i> sp. 39.2.1	5,2
<i>Streptomyces</i> sp. 2.1.2	31,6	<i>Nocardia</i> sp. 26.2.2	4,8
<i>Pseudonocardia</i> sp. 8.1.1	31,3	<i>Pseudonocardia</i> sp. 31.2.2	4,8
<i>Streptomyces</i> sp. 9.1.3	30,6	<i>Streptomyces</i> sp. 7.1.2	4,8

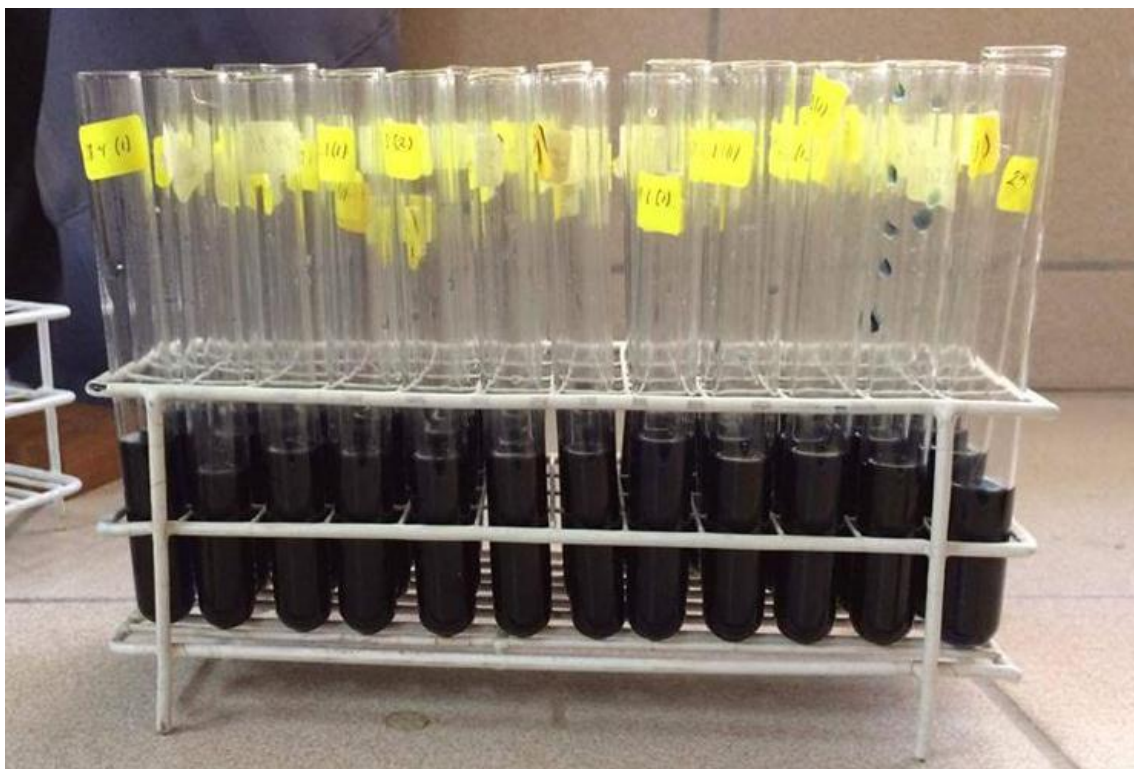
Continuación...

Actinobacterias código UNPRG	Amonio (ppm)	Actinobacterias código UNPRG	Amonio (ppm)
<i>Nocardia</i> sp. 28.1.2	4,7	<i>Nocardia</i> sp. 17.1.1	3,7
<i>Pseudonocardia</i> sp. 29.1.1	4,7	<i>Streptomyces</i> sp. 18.1.1	3,7
<i>Streptomyces</i> sp. 35.2.3	4,6	<i>Nocardia</i> sp. 7.1.4	3,6
<i>Streptomyces</i> sp. 15.2.1	4,6	<i>Streptomyces</i> sp. 8.2.2	3,6
<i>Nocardia</i> sp. 50.1.2	4,6	<i>Streptomyces</i> sp. 23.1.1	3,6
<i>Saccharopolyspora</i> sp. 27.1.1	4,5	<i>Nocardia</i> sp. 36.2.5	3,5
<i>Streptomyces</i> sp. 31.2.4	4,5	<i>Pseudonocardia</i> sp. 51.2.1	3,5
<i>Streptomyces</i> sp. 53.2.1	4,5	<i>Nocardia</i> sp. 8.1.2	3,4
<i>Streptomyces</i> sp. 38.1.3	4,4	<i>Streptomyces</i> sp. 8.1.3	3,4
<i>Nocardia</i> sp. 39.2.2	4,4	<i>Streptomyces</i> sp. 36.2.1	3,4
<i>Pseudonocardia</i> sp. 27.1.2	4,4	<i>Nocardioides</i> sp. 50.1.1	3,4
<i>Streptomyces</i> sp. 44.2.1	4,3	<i>Nocardioides</i> sp. 44.1.2	3,3
<i>Streptomyces</i> sp. 35.2.2	4,3	<i>Nocardia</i> sp. 47.1.3	3,3
<i>Streptomyces</i> sp. 38.1.2	4,3	<i>Pseudonocardia</i> sp. 7.2.2	3,3
<i>Streptomyces</i> sp. 30.1.2	4,3	<i>Streptomyces</i> sp. 22.2.1	3,3
<i>Streptomyces</i> sp. 18.1.2	4,3	<i>Streptomyces</i> sp. 41.1.2	3,3
<i>Streptomyces</i> sp. 12.1.2	4,3	<i>Streptomyces</i> sp. 11.2.2	3,3
<i>Streptomyces</i> sp. 37.1.1	4,3	<i>Streptomyces</i> sp. 10.1.4	3,2
<i>Streptomyces</i> sp. 43.1.2	4,2	<i>Streptomyces</i> sp. 10.1.5	3,2
<i>Nocardia</i> sp. 31.2.3	4,2	<i>Streptomyces</i> sp. 42.1.1	3,2
<i>Saccharopolyspora</i> sp. 32.1.1	4,1	<i>Pseudonocardia</i> sp. 50.2.2	3,2
<i>Streptomyces</i> sp. 14.1.2	4,1	<i>Streptomyces</i> sp. 4.1.1	3,1
<i>Streptomyces</i> sp. 7.2.1	4,1	<i>Saccharopolyspora</i> sp. 5.2.1	3,0
<i>Streptomyces</i> sp. 34.2.4	4,0	<i>Streptomyces</i> sp. 10.1.7	3,0
<i>Streptomyces</i> sp. 6.1.1	4,0	<i>Streptomyces</i> sp. 23.1.3	3,0
<i>Streptomyces</i> sp. 10.1.6	3,9	<i>Streptomyces</i> sp. 46.2.2	3,0
<i>Nocardia</i> sp. 22.1.1	3,9	<i>Streptomyces</i> sp. 7.1.3	2,9
<i>Nocardia</i> sp. 48.1.2	3,9	<i>Streptomyces</i> sp. 3.2.2	2,9
<i>Streptomyces</i> sp. 16.2.1	3,9	<i>Streptomyces</i> sp. 16.1.1	2,9
<i>Saccharopolyspora</i> sp. 10.1.1	3,8	<i>Streptomyces</i> sp. 20.1.1	2,9
<i>Streptomyces</i> sp. 14.2.3	3,8	<i>Streptomyces</i> sp. 47.2.2	2,8
<i>Pseudonocardia</i> sp. 18.2.1	3,8	<i>Streptomyces</i> sp. 21.1.1	2,8
<i>Nocardia</i> sp. 34.2.3	3,8	<i>Nocardia</i> sp. 8.2.3	2,8
<i>Streptomyces</i> sp. 9.1.2	3,7	<i>Streptomyces</i> sp. 28.2.2	2,7
<i>Nocardiopsis</i> sp. 14.1.1	3,7	<i>Streptomyces</i> sp. 26.2.1	2,7

Continuación...

Actinobacterias código UNPRG	Amonio (ppm)	Actinobacterias código UNPRG	Amonio (ppm)
<i>Streptomyces</i> sp. 33.1.1	2,7	<i>Nocardia</i> sp. 44.2.2	2,1
<i>Streptomyces</i> sp. 14.2.2	2,6	<i>Saccharopolyspora</i> sp. 14.2.1	2,0
<i>Nocardiosis</i> sp. 42.1.2	2,6	<i>Nocardiosis</i> sp. 16.2.3	2,0
<i>Nocardiosis</i> sp. 42.2.1	2,6	<i>Nocardiosis</i> sp. 20.1.3	2,0
<i>Pseudonocardia</i> sp. 32.2.1	2,6	<i>Nocardiosis</i> sp. 24.2.3	2,0
<i>Nocardiosis</i> sp. 27.1.3	2,6	<i>Nocardiosis</i> sp. 47.1.2	2,0
<i>Pseudonocardia</i> sp. 17.2.2	2,6	<i>Nocardia</i> sp. 1.2.1	2,0
<i>Nocardia</i> sp. 1.2.2	2,5	<i>Nocardiosis</i> sp. 34.1.2	1,9
<i>Nocardiosis</i> sp. 21.2.4	2,5	<i>Nocardia</i> sp. 29.1.2	1,9
<i>Nocardia</i> sp. 40.2.3	2,5	<i>Nocardiosis</i> sp. 15.1.1	1,8
<i>Nocardia</i> sp. 49.1.2	2,5	<i>Nocardiosis</i> sp. 27.2.1	1,8
<i>Nocardiosis</i> sp. 44.1.1	2,5	<i>Nocardia</i> sp. 32.2.2	1,8
<i>Nocardiosis</i> sp. 32.1.2	2,5	<i>Nocardiosis</i> sp. 40.2.1	1,8
<i>Nocardiosis</i> sp. 21.1.2	2,4	<i>Nocardiosis</i> sp. 24.2.2	1,8
<i>Nocardiosis</i> sp. 51.1.1	2,4	<i>Nocardiosis</i> sp. 39.2.3	1,7
<i>Pseudonocardia</i> sp. 52.1.1	2,4	<i>Nocardia</i> sp. 16.1.3	1,6
<i>Nocardiosis</i> sp. 38.1.4	2,4	<i>Nocardia</i> sp. 26.1.1	1,6
<i>Nocardiosis</i> sp. 23.2.1	2,4	<i>Nocardiosis</i> sp. 36.1.1	1,6
<i>Pseudonocardia</i> sp. 26.2.3	2,3	<i>Nocardiosis</i> sp. 44.2.3	1,6
<i>Nocardia</i> sp. 37.2.2	2,3	<i>Nocardiosis</i> sp. 24.2.1	1,6
<i>Nocardiosis</i> sp. 40.1.2	2,3	<i>Nocardiosis</i> sp. 26.1.2	1,5
<i>Nocardiosis</i> sp. 13.2.2	2,3	<i>Nocardiosis</i> sp. 38.1.1	1,5
<i>Nocardia</i> sp. 15.2.2	2,3	<i>Nocardia</i> sp. 36.2.4	1,5
<i>Pseudonocardia</i> sp. 19.2.2	2,3	<i>Nocardiosis</i> sp. 19.1.1	1,5
<i>Nocardiosis</i> sp. 22.2.2	2,3	<i>Nocardiosis</i> sp. 47.1.1	1,4
<i>Nocardiosis</i> sp. 54.2.3	2,2	<i>Nocardiosis</i> sp. 35.1.1	1,4
<i>Nocardia</i> sp. 36.2.2	2,2	<i>Nocardia</i> sp. 23.1.2	1,4
<i>Nocardia</i> sp. 29.1.3	2,2	<i>Nocardiosis</i> sp. 7.1.6	1,4
<i>Nocardiosis</i> sp. 9.1.1	2,2	<i>Nocardiosis</i> sp. 21.2.1	1,0
<i>Nocardiosis</i> sp. 9.2.3	2,2		
<i>Nocardiosis</i> sp. 19.2.1	2,1		
<i>Nocardiosis</i> sp. 51.1.2	2,1		
<i>Nocardiosis</i> sp. 54.1.1	2,1		
<i>Nocardiosis</i> sp. 40.2.4	2,1		
<i>Nocardiosis</i> sp. 43.1.3	2,1		

Fuente: Elaboración propia



**Figura 32.** Coloración observada en la cuantificación de fósforo soluble.  
Fuente: Elaboración propia



**Tabla 4.** Fósforo (ppm) cuantificado en la solubilización por Actinobacterias aisladas de raíces y suelo rizosférico de *Portulaca oleracea* L.

Actinobacterias código UNPRG	Fósforo soluble (ppm)	Actinobacterias código UNPRG	Fósforo soluble (ppm)
<i>Streptomyces</i> sp. 22.2.1	32,7	<i>Streptomyces</i> sp. 10.1.4	19,3
<i>Streptomyces</i> sp. 3.2.2	29,3	<i>Nocardia</i> sp. 36.2.4	19,2
<i>Streptomyces</i> sp. 11.1.1	27,8	<i>Streptomyces</i> sp. 8.1.3	19,2
<i>Nocardia</i> sp. 34.2.2	26,5	<i>Pseudonocardia</i> sp. 29.1.1	19,2
<i>Streptomyces</i> sp. 16.1.1	25,8	<i>Pseudonocardia</i> sp. 8.1.1	19,1
<i>Saccharopolyspora</i> sp. 9.2.1	25,6	<i>Nocardia</i> sp. 44.2.2	19,1
<i>Saccharopolyspora</i> sp. 5.2.1	24,3	<i>Nocardia</i> sp. 10.1.2	19,0
<i>Nocardia</i> sp. 26.2.2	24,0	<i>Nocardiosis</i> sp. 26.1.2	19,0
<i>Streptomyces</i> sp. 27.2.3	23,8	<i>Streptomyces</i> sp. 31.1.1	19,0
<i>Streptomyces</i> sp. 10.1.3	23,4	<i>Streptomyces</i> sp. 53.1.1	19,0
<i>Nocardia</i> sp. 47.1.3	22,5	<i>Nocardioides</i> sp. 44.1.2	18,9
<i>Nocardia</i> sp. 1.2.1	21,4	<i>Streptomyces</i> sp. 41.2.1	18,7
<i>Streptomyces</i> sp. 14.1.2	21,4	<i>Nocardiosis</i> sp. 39.2.3	18,6
<i>Nocardiosis</i> sp. 23.2.1	21,2	<i>Nocardiosis</i> sp. 40.2.4	18,5
<i>Nocardia</i> sp. 37.1.2	21,1	<i>Streptomyces</i> sp. 47.2.1	18,5
<i>Nocardiosis</i> sp. 16.2.3	21,0	<i>Pseudonocardia</i> sp. 51.2.1	18,5
<i>Streptomyces</i> sp. 6.1.3	20,8	<i>Nocardia</i> sp. 32.2.2	18,4
<i>Streptomyces</i> sp. 12.2.1	20,7	<i>Streptomyces</i> sp. 53.2.2	18,4
<i>Streptomyces</i> sp. 38.1.2	20,3	<i>Streptomyces</i> sp. 45.2.1	18,4
<i>Streptomyces</i> sp. 7.1.3	20,2	<i>Streptomyces</i> sp. 7.1.1	18,4
<i>Streptomyces</i> sp. 10.1.7	20,2	<i>Streptomyces</i> sp. 38.1.3	18,4
<i>Nocardia</i> sp. 8.2.3	20,1	<i>Nocardiosis</i> sp. 19.1.1	18,4
<i>Streptomyces</i> sp. 23.1.3	20,0	<i>Nocardia</i> sp. 7.1.4	18,3
<i>Nocardiosis</i> sp. 51.1.1	20,0	<i>Streptomyces</i> sp. 9.1.2	18,3
<i>Nocardia</i> sp. 22.1.1	19,9	<i>Nocardiosis</i> sp. 14.1.1	18,3
<i>Pseudonocardia</i> sp. 39.2.1	19,8	<i>Pseudonocardia</i> sp. 28.2.4	18,3
<i>Streptomyces</i> sp. 37.1.1	19,8	<i>Nocardia</i> sp. 41.1.1	18,3
<i>Streptomyces</i> sp. 48.1.1	19,7	<i>Nocardia</i> sp. 1.2.2	18,2
<i>Nocardioides</i> sp. 47.1.4	19,6	<i>Streptomyces</i> sp. 5.1.3	18,2
<i>Pseudonocardia</i> sp. 50.2.1	19,6	<i>Pseudonocardia</i> sp. 32.2.1	18,2
<i>Nocardiosis</i> sp. 27.2.1	19,6	<i>Nocardiosis</i> sp. 43.1.3	18,1
<i>Nocardiosis</i> sp. 21.1.2	19,5	<i>Nocardiosis</i> sp. 13.2.2	18,1
<i>Streptomyces</i> sp. 43.1.1	19,5	<i>Streptomyces</i> sp. 33.2.1	18,1
<i>Nocardia</i> sp. 36.2.2	19,4	<i>Streptomyces</i> sp. 30.1.3	18,1
<i>Pseudonocardia</i> sp. 36.2.3	19,3	<i>Pseudonocardia</i> sp. 28.1.1	18,1

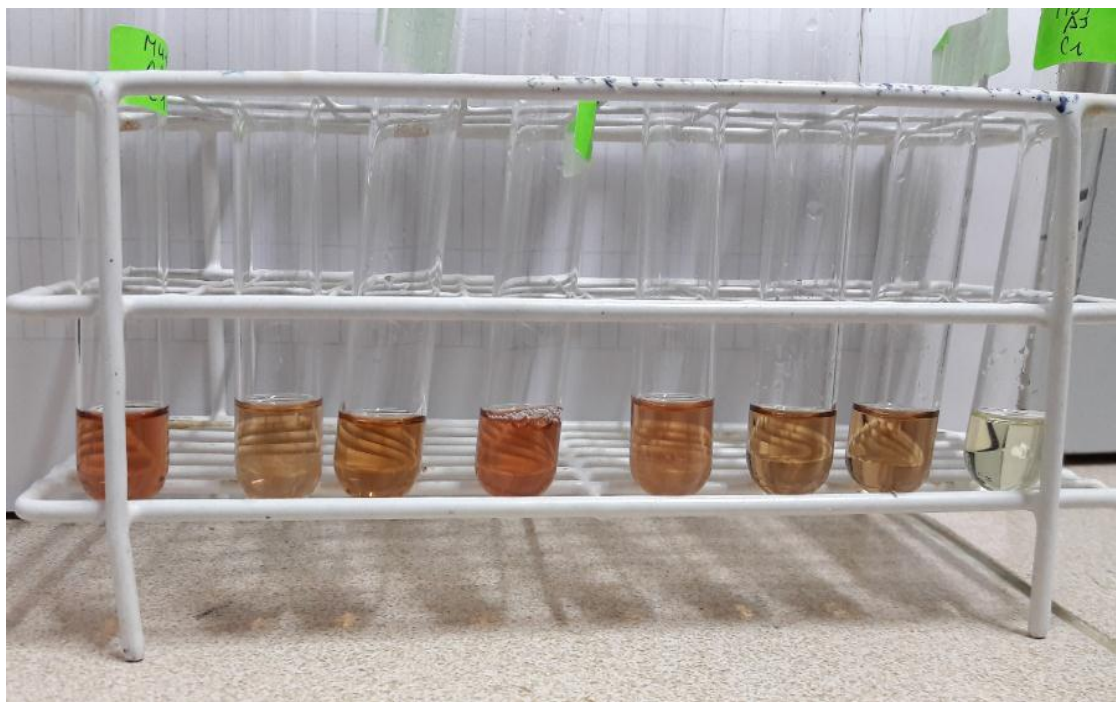
Continuación...

Actinobacterias código UNPRG	Fósforo soluble (ppm)	Actinobacterias código UNPRG	Fósforo soluble (ppm)
<i>Pseudonocardia</i> sp. 12.2.3	18,1	<i>Streptomyces</i> sp. 47.2.2	17,3
<i>Streptomyces</i> sp. 20.1.1	18,0	<i>Streptomyces</i> sp. 36.2.1	17,3
<i>Nocardiosis</i> sp. 47.1.1	18,0	<i>Pseudonocardia</i> sp. 4.2.1	17,3
<i>Streptomyces</i> sp. 34.1.1	18,0	<i>Nocardiosis</i> sp. 38.1.1	17,2
<i>Streptomyces</i> sp. 23.1.1	18,0	<i>Nocardiosis</i> sp. 42.2.1	17,2
<i>Nocardiosis</i> sp. 24.2.1	18,0	<i>Nocardia</i> sp. 16.1.3	17,1
<i>Streptomyces</i> sp. 42.1.1	17,9	<i>Streptomyces</i> sp. 10.1.5	17,1
<i>Nocardioide</i> sp. 33.2.2	17,9	<i>Streptomyces</i> sp. 6.1.4	17,1
<i>Saccharopolyspora</i> sp. 27.1.1	17,9	<i>Nocardioide</i> sp. 50.1.1	17,1
<i>Streptomyces</i> sp. 15.2.1	17,9	<i>Pseudonocardia</i> sp. 52.1.1	17,1
<i>Pseudonocardia</i> sp. 5.1.2	17,9	<i>Nocardiosis</i> sp. 44.2.3	17,1
<i>Nocardiosis</i> sp. 24.2.3	17,9	<i>Streptomyces</i> sp. 45.1.1	17,1
<i>Nocardia</i> sp. 37.2.2	17,9	<i>Pseudonocardia</i> sp. 7.2.2	17,1
<i>Saccharopolyspora</i> sp. 4.1.2	17,9	<i>Streptomyces</i> sp. 8.2.2	17,1
<i>Streptomyces</i> sp. 31.2.4	17,8	<i>Nocardiosis</i> sp. 21.2.4	17,1
<i>Nocardiosis</i> sp. 19.2.1	17,8	<i>Nocardiosis</i> sp. 54.1.1	17,0
<i>Streptomyces</i> sp. 18.1.2	17,8	<i>Streptomyces</i> sp. 42.2.2	17,0
<i>Streptomyces</i> sp. 33.1.1	17,7	<i>Streptomyces</i> sp. 14.2.2	17,0
<i>Saccharopolyspora</i> sp. 14.2.1	17,7	<i>Pseudonocardia</i> sp. 18.2.1	17,0
<i>Saccharopolyspora</i> sp. 10.1.1	17,7	<i>Nocardiosis</i> sp. 27.1.3	17,0
<i>Streptomyces</i> sp. 9.2.2	17,7	<i>Streptomyces</i> sp. 29.2.3	17,0
<i>Streptomyces</i> sp. 54.1.2	17,7	<i>Pseudonocardia</i> sp. 31.2.2	16,9
<i>Streptomyces</i> sp. 35.1.2	17,6	<i>Nocardia</i> sp. 8.1.2	16,9
<i>Streptomyces</i> sp. 35.2.2	17,6	<i>Streptomyces</i> sp. 49.2.1	16,9
<i>Streptomyces</i> sp. 46.2.1	17,6	<i>Streptomyces</i> sp. 52.2.1	16,9
<i>Nocardia</i> sp. 26.1.1	17,6	<i>Streptomyces</i> sp. 45.1.2	16,9
<i>Streptomyces</i> sp. 9.1.3	17,6	<i>Nocardiosis</i> sp. 34.1.2	16,8
<i>Streptomyces</i> sp. 8.1.4	17,6	<i>Streptomyces</i> sp. 35.2.3	16,8
<i>Streptomyces</i> sp. 8.2.1	17,5	<i>Streptomyces</i> sp. 46.2.2	16,8
<i>Streptomyces</i> sp. 43.1.2	17,5	<i>Streptomyces</i> sp. 41.1.2	16,8
<i>Nocardia</i> sp. 54.2.1	17,5	<i>Streptomyces</i> sp. 12.1.2	16,8
<i>Streptomyces</i> sp. 24.1.1	17,5	<i>Streptomyces</i> sp. 12.2.2	16,7
<i>Pseudonocardia</i> sp. 26.2.3	17,4	<i>Streptomyces</i> sp. 22.1.2	16,7
<i>Nocardiosis</i> sp. 54.2.3	17,4	<i>Nocardia</i> sp. 31.2.3	16,6
<i>Nocardiosis</i> sp. 11.1.2	17,3	<i>Streptomyces</i> sp. 4.1.1	16,6

Continuación...

Actinobacterias código UNPRG	Fósforo soluble (ppm)	Actinobacterias código UNPRG	Fósforo soluble (ppm)
<i>Nocardia</i> sp. 28.1.2	16,6	<i>Nocardiopsis</i> sp. 24.2.2	15,8
<i>Streptomyces</i> sp. 30.1.2	16,6	<i>Nocardiopsis</i> sp. 22.2.2	15,8
<i>Saccharopolyspora</i> sp. 32.1.1	16,6	<i>Nocardiopsis</i> sp. 38.1.4	15,8
<i>Nocardiopsis</i> sp. 40.1.2	16,6	<i>Streptomyces</i> sp. 16.2.1	15,7
<i>Streptomyces</i> sp. 40.2.2	16,6	<i>Streptomyces</i> sp. 45.2.2	15,7
<i>Nocardiopsis</i> sp. 36.1.1	16,5	<i>Nocardiopsis</i> sp. 40.2.1	15,7
<i>Streptomyces</i> sp. 48.1.3	16,5	<i>Nocardia</i> sp. 29.1.2	15,6
<i>Streptomyces</i> sp. 10.1.6	16,5	<i>Nocardiopsis</i> sp. 21.2.1	15,5
<i>Streptomyces</i> sp. 13.2.1	16,5	<i>Nocardia</i> sp. 36.2.5	15,5
<i>Streptomyces</i> sp. 6.1.1	16,5	<i>Nocardia</i> sp. 50.1.2	15,5
<i>Streptomyces</i> sp. 7.1.2	16,5	<i>Nocardiopsis</i> sp. 32.1.2	15,4
<i>Nocardiopsis</i> sp. 9.2.3	16,4	<i>Streptomyces</i> sp. 53.2.1	15,3
<i>Pseudonocardia</i> sp. 46.1.1	16,4	<i>Streptomyces</i> sp. 18.1.1	15,2
<i>Nocardia</i> sp. 40.2.3	16,4	<i>Streptomyces</i> sp. 44.2.1	15,2
<i>Nocardia</i> sp. 34.2.3	16,4	<i>Nocardia</i> sp. 29.1.3	15,2
<i>Streptomyces</i> sp. 50.2.3	16,4	<i>Nocardia</i> sp. 23.1.2	15,1
<i>Pseudonocardia</i> sp. 19.2.2	16,4	<i>Streptomyces</i> sp. 39.1.2	14,9
<i>Nocardiopsis</i> sp. 44.1.1	16,3	<i>Streptomyces</i> sp. 26.2.1	14,9
<i>Nocardia</i> sp. 39.2.2	16,3	<i>Nocardia</i> sp. 17.1.1	14,7
<i>Nocardiopsis</i> sp. 42.1.2	16,2	<i>Pseudonocardia</i> sp. 30.1.1	14,5
<i>Streptomyces</i> sp. 14.2.3	16,2	<i>Streptomyces</i> sp. 28.2.2	14,3
<i>Streptomyces</i> sp. 7.2.1	16,2	<i>Nocardia</i> sp. 15.2.2	14,1
<i>Pseudonocardia</i> sp. 27.1.2	16,1	<i>Pseudonocardia</i> sp. 17.2.2	13,7
<i>Streptomyces</i> sp. 11.2.2	16,1	<i>Nocardiopsis</i> sp. 7.1.6	13,5
<i>Pseudonocardia</i> sp. 31.1.2	16,1	<i>Streptomyces</i> sp. 2.1.2	13,3
<i>Nocardiopsis</i> sp. 47.1.2	16,1	<i>Streptomyces</i> sp. 3.2.3	12,6
<i>Streptomyces</i> sp. 39.1.1	16,1	<i>Streptomyces</i> sp. 2.1.1	12,3
<i>Pseudonocardia</i> sp. 50.2.2	16,0	<i>Nocardiopsis</i> sp. 15.1.1	11,8
<i>Nocardiopsis</i> sp. 51.1.2	16,0	<i>Nocardiopsis</i> sp. 20.1.3	11,5
<i>Nocardia</i> sp. 48.1.2	16,0		
<i>Streptomyces</i> sp. 21.1.1	15,9		
<i>Streptomyces</i> sp. 34.2.4	15,9		
<i>Nocardiopsis</i> sp. 35.1.1	15,9		
<i>Nocardia</i> sp. 49.1.2	15,8		
<i>Nocardiopsis</i> sp. 9.1.1	15,8		

Fuente: Elaboración propia



**Figura 33.** Coloración observada en la cuantificación de indoles.  
Fuente: Elaboración propia

**Tabla 5.** Indoles producidos (ppm) por Actinobacterias aisladas de raíces y suelo rizosférico de *Portulaca oleracea* L.

Actinobacterias código UNPRG	Indoles (ppm)	Actinobacterias código UNPRG	Indoles (ppm)
<i>Nocardia</i> sp. 54.2.1	80,3	<i>Streptomyces</i> sp. 10.1.3	54,4
<i>Streptomyces</i> sp. 41.2.1	77,6	<i>Streptomyces</i> sp. 7.2.1	53,9
<i>Streptomyces</i> sp. 52.2.1	77,6	<i>Pseudonocardia</i> sp. 50.2.2	53,9
<i>Streptomyces</i> sp. 34.2.4	76,8	<i>Nocardia</i> sp. 41.1.1	53,7
<i>Pseudonocardia</i> sp. 29.1.1	74,4	<i>Streptomyces</i> sp. 53.1.1	53,7
<i>Streptomyces</i> sp. 48.1.1	73,5	<i>Nocardia</i> sp. 1.2.1	53,5
<i>Nocardiopsis</i> sp. 38.1.1	68,9	<i>Nocardia</i> sp. 32.2.2	53,3
<i>Streptomyces</i> sp. 42.2.2	68,0	<i>Nocardioides</i> sp. 50.1.1	53,3
<i>Nocardioides</i> sp. 47.1.4	67,1	<i>Pseudonocardia</i> sp. 30.1.1	53,3
<i>Streptomyces</i> sp. 7.1.1	66,7	<i>Streptomyces</i> sp. 39.1.1	52,8
<i>Nocardiopsis</i> sp. 27.1.3	65,6	<i>Streptomyces</i> sp. 18.1.1	52,8
<i>Streptomyces</i> sp. 35.2.3	65,4	<i>Pseudonocardia</i> sp. 17.2.2	52,8
<i>Nocardia</i> sp. 37.1.2	64,3	<i>Nocardiopsis</i> sp. 14.1.1	52,6
<i>Nocardioides</i> sp. 33.2.2	63,6	<i>Nocardia</i> sp. 44.2.2	52,0
<i>Nocardia</i> sp. 39.2.2	62,9	<i>Streptomyces</i> sp. 31.2.4	52,0
<i>Nocardiopsis</i> sp. 47.1.2	62,9	<i>Pseudonocardia</i> sp. 8.1.1	51,7
<i>Streptomyces</i> sp. 12.1.2	62,3	<i>Nocardia</i> sp. 47.1.3	51,7
<i>Nocardiopsis</i> sp. 16.2.3	61,2	<i>Streptomyces</i> sp. 43.1.1	51,5
<i>Streptomyces</i> sp. 40.2.2	61,0	<i>Pseudonocardia</i> sp. 4.2.1	51,3
<i>Pseudonocardia</i> sp. 7.2.2	60,1	<i>Streptomyces</i> sp. 36.2.1	51,3
<i>Nocardia</i> sp. 22.1.1	59,9	<i>Nocardia</i> sp. 29.1.3	51,3
<i>Streptomyces</i> sp. 54.1.2	59,4	<i>Pseudonocardia</i> sp. 31.1.2	51,3
<i>Nocardia</i> sp. 15.2.2	59,2	<i>Saccharopolyspora</i> sp. 4.1.2	51,1
<i>Nocardiopsis</i> sp. 11.1.2	59,2	<i>Nocardia</i> sp. 26.1.1	50,9
<i>Streptomyces</i> sp. 48.1.3	59,0	<i>Nocardiopsis</i> sp. 44.2.3	50,6
<i>Streptomyces</i> sp. 23.1.1	57,7	<i>Streptomyces</i> sp. 8.2.2	50,6
<i>Streptomyces</i> sp. 29.2.3	57,2	<i>Streptomyces</i> sp. 9.2.2	50,6
<i>Nocardiopsis</i> sp. 24.2.1	56,8	<i>Nocardia</i> sp. 36.2.4	50,6
<i>Streptomyces</i> sp. 35.2.2	56,6	<i>Streptomyces</i> sp. 15.2.1	50,4
<i>Pseudonocardia</i> sp. 36.2.3	56,1	<i>Pseudonocardia</i> sp. 31.2.2	50,4
<i>Nocardiopsis</i> sp. 44.1.1	55,9	<i>Saccharopolyspora</i> sp. 5.2.1	50,4
<i>Streptomyces</i> sp. 50.2.3	55,5	<i>Pseudonocardia</i> sp. 46.1.1	50,4
<i>Pseudonocardia</i> sp. 26.2.3	55,3	<i>Streptomyces</i> sp. 45.1.2	50,2
<i>Nocardiopsis</i> sp. 21.1.2	55,3	<i>Nocardia</i> sp. 16.1.3	50,2
<i>Pseudonocardia</i> sp. 12.2.3	54,4	<i>Streptomyces</i> sp. 6.1.3	50,0

Continuación...

Actinobacterias código UNPRG	Indoles (ppm)	Actinobacterias código UNPRG	Indoles (ppm)
<i>Streptomyces</i> sp. 12.2.1	50,0	<i>Nocardiopsis</i> sp. 54.1.1	47,8
<i>Nocardiopsis</i> sp. 54.2.3	49,8	<i>Streptomyces</i> sp. 51.1.1	47,8
<i>Streptomyces</i> sp. 37.1.1	49,8	<i>Nocardia</i> sp. 48.1.2	47,8
<i>Saccharopolyspora</i> sp. 10.1.1	49,6	<i>Nocardia</i> sp. 8.2.3	47,6
<i>Streptomyces</i> sp. 13.2.1	49,6	<i>Nocardia</i> sp. 23.1.2	47,6
<i>Streptomyces</i> sp. 43.1.2	49,3	<i>Nocardiopsis</i> sp. 21.2.1	47,6
<i>Saccharopolyspora</i> sp. 14.2.1	49,3	<i>Streptomyces</i> sp. 14.2.2	47,6
<i>Streptomyces</i> sp. 9.1.3	49,1	<i>Nocardia</i> sp. 8.1.2	47,6
<i>Saccharopolyspora</i> sp. 9.2.1	49,1	<i>Nocardiopsis</i> sp. 27.2.1	47,6
<i>Streptomyces</i> sp. 22.2.1	49,1	<i>Streptomyces</i> sp. 45.1.1	47,6
<i>Streptomyces</i> sp. 33.2.1	49,1	<i>Streptomyces</i> sp. 46.2.1	47,6
<i>Streptomyces</i> sp. 27.2.3	49,1	<i>Streptomyces</i> sp. 53.2.1	47,6
<i>Nocardia</i> sp. 26.2.2	49,1	<i>Nocardiopsis</i> sp. 38.1.4	47,6
<i>Nocardioides</i> sp. 44.1.2	49,1	<i>Streptomyces</i> sp. 31.1.1	47,6
<i>Streptomyces</i> sp. 47.2.1	49,1	<i>Nocardiopsis</i> sp. 9.2.3	47,4
<i>Pseudonocardia</i> sp. 50.2.1	49,1	<i>Streptomyces</i> sp. 10.1.4	47,4
<i>Nocardiopsis</i> sp. 24.2.2	48,9	<i>Nocardia</i> sp. 7.1.4	47,4
<i>Nocardiopsis</i> sp. 34.1.2	48,7	<i>Streptomyces</i> sp. 8.1.4	47,4
<i>Streptomyces</i> sp. 38.1.2	48,7	<i>Nocardiopsis</i> sp. 47.1.1	47,4
<i>Streptomyces</i> sp. 46.2.2	48,7	<i>Streptomyces</i> sp. 7.1.3	47,1
<i>Nocardiopsis</i> sp. 43.1.3	48,5	<i>Streptomyces</i> sp. 7.1.2	47,1
<i>Pseudonocardia</i> sp. 39.2.1	48,5	<i>Nocardiopsis</i> sp. 39.2.3	47,1
<i>Streptomyces</i> sp. 3.2.2	48,5	<i>Nocardiopsis</i> sp. 42.2.1	47,1
<i>Pseudonocardia</i> sp. 18.2.1	48,5	<i>Streptomyces</i> sp. 53.2.2	47,1
<i>Streptomyces</i> sp. 18.1.2	48,2	<i>Streptomyces</i> sp. 11.2.2	47,1
<i>Pseudonocardia</i> sp. 51.2.1	48,2	<i>Pseudonocardia</i> sp. 28.2.4	47,1
<i>Nocardiopsis</i> sp. 26.1.2	48,2	<i>Streptomyces</i> sp. 6.1.4	46,9
<i>Streptomyces</i> sp. 42.1.1	48,2	<i>Nocardia</i> sp. 10.1.2	46,9
<i>Streptomyces</i> sp. 20.1.1	48,0	<i>Pseudonocardia</i> sp. 28.1.1	46,9
<i>Streptomyces</i> sp. 34.1.1	48,0	<i>Streptomyces</i> sp. 28.2.2	46,9
<i>Nocardia</i> sp. 1.2.2	47,8	<i>Streptomyces</i> sp. 14.1.2	46,7
<i>Streptomyces</i> sp. 3.2.3	47,8	<i>Streptomyces</i> sp. 14.2.3	46,7
<i>Pseudonocardia</i> sp. 27.1.2	47,8	<i>Streptomyces</i> sp. 4.1.1	46,7
<i>Streptomyces</i> sp. 44.2.1	47,8	<i>Nocardiopsis</i> sp. 40.2.1	46,7
<i>Nocardiopsis</i> sp. 40.1.2	47,8	<i>Nocardia</i> sp. 49.1.2	46,5

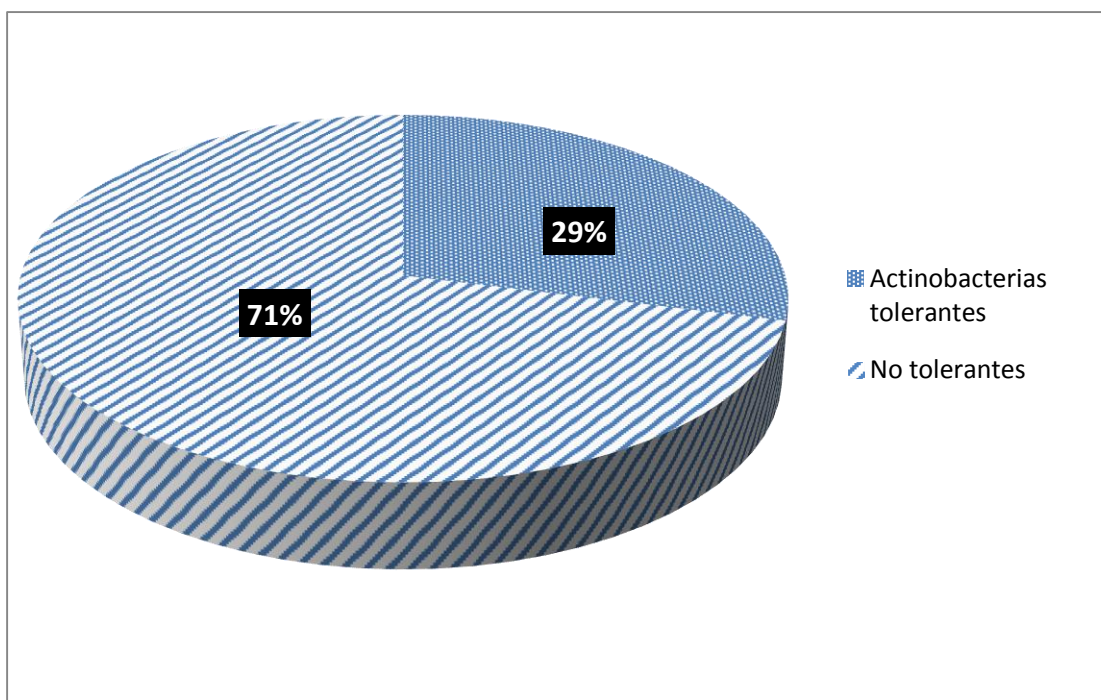
Continuación...

Actinobacterias código UNPRG	Indoles (ppm)	Actinobacterias código UNPRG	Indoles (ppm)
<i>Streptomyces</i> sp. 21.1.1	46,5	<i>Nocardia</i> sp. 37.2.2	45,2
<i>Nocardiosis</i> sp. 24.2.3	46,5	<i>Streptomyces</i> sp. 16.1.1	45,2
<i>Streptomyces</i> sp. 10.1.7	46,5	<i>Streptomyces</i> sp. 5.1.3	45,2
<i>Streptomyces</i> sp. 10.1.6	46,5	<i>Streptomyces</i> sp. 49.2.1	45,2
<i>Streptomyces</i> sp. 10.1.5	46,5	<i>Streptomyces</i> sp. 45.2.1	44,7
<i>Streptomyces</i> sp. 2.1.2	46,5	<i>Streptomyces</i> sp. 2.1.1	44,5
<i>Nocardia</i> sp. 29.1.2	46,5	<i>Nocardia</i> sp. 34.2.3	44,3
<i>Nocardia</i> sp. 50.1.2	46,3	<i>Streptomyces</i> sp. 30.1.3	44,1
<i>Nocardia</i> sp. 36.2.2	46,3	<i>Streptomyces</i> sp. 8.1.3	44,7
<i>Nocardiosis</i> sp. 42.1.2	46,3	<i>Streptomyces</i> sp. 11.1.1	44,7
<i>Streptomyces</i> sp. 41.1.2	46,3	<i>Nocardiosis</i> sp. 32.1.2	44,1
<i>Nocardiosis</i> sp. 9.1.1	46,3	<i>Nocardiosis</i> sp. 19.2.1	43,8
<i>Nocardiosis</i> sp. 23.2.1	46,3	<i>Nocardia</i> sp. 17.1.1	43,8
<i>Pseudonocardia</i> sp. 5.1.2	46,0	<i>Streptomyces</i> sp. 45.2.2	43,6
<i>Streptomyces</i> sp. 8.2.1	46,0	<i>Pseudonocardia</i> sp. 32.2.1	43,6
<i>Nocardia</i> sp. 36.2.5	46,0	<i>Streptomyces</i> sp. 30.1.2	43,4
<i>Nocardia</i> sp. 40.2.3	46,0	<i>Streptomyces</i> sp. 23.1.3	43,2
<i>Nocardiosis</i> sp. 40.2.4	46,0	<i>Streptomyces</i> sp. 33.1.1	42,5
<i>Saccharopolyspora</i> sp. 27.1.1	46,0	<i>Nocardia</i> sp. 31.2.3	41,6
<i>Nocardiosis</i> sp. 36.1.1	44,9	<i>Pseudonocardia</i> sp. 19.2.2	41,6
<i>Streptomyces</i> sp. 38.1.3	44,9	<i>Nocardia</i> sp. 34.2.2	41,0
<i>Streptomyces</i> sp. 39.1.2	45,8	<i>Streptomyces</i> sp. 24.1.1	40,3
<i>Nocardiosis</i> sp. 35.1.1	45,8	<i>Streptomyces</i> sp. 12.2.2	40,1
<i>Nocardiosis</i> sp. 19.1.1	45,8	<i>Nocardiosis</i> sp. 22.2.2	39,0
<i>Streptomyces</i> sp. 6.1.1	45,8	<i>Nocardiosis</i> sp. 20.1.3	28,7
<i>Streptomyces</i> sp. 16.2.1	45,6	<i>Streptomyces</i> sp. 26.2.1	26,9
<i>Nocardiosis</i> sp. 21.2.4	45,6	<i>Streptomyces</i> sp. 22.1.2	26,1
<i>Streptomyces</i> sp. 9.1.2	45,6	<i>Nocardiosis</i> sp. 7.1.6	25,0
<i>Streptomyces</i> sp. 35.1.2	45,6	<i>Nocardiosis</i> sp. 15.1.1	22,8
<i>Pseudonocardia</i> sp. 52.1.1	45,6		
<i>Nocardiosis</i> sp. 51.1.2	45,6		
<i>Nocardiosis</i> sp. 13.2.2	45,4		
<i>Saccharopolyspora</i> sp. 32.1.1	45,4		
<i>Streptomyces</i> sp. 47.2.2	45,4		
<i>Nocardia</i> sp. 28.1.2	45,2		

Fuente: Elaboración propia

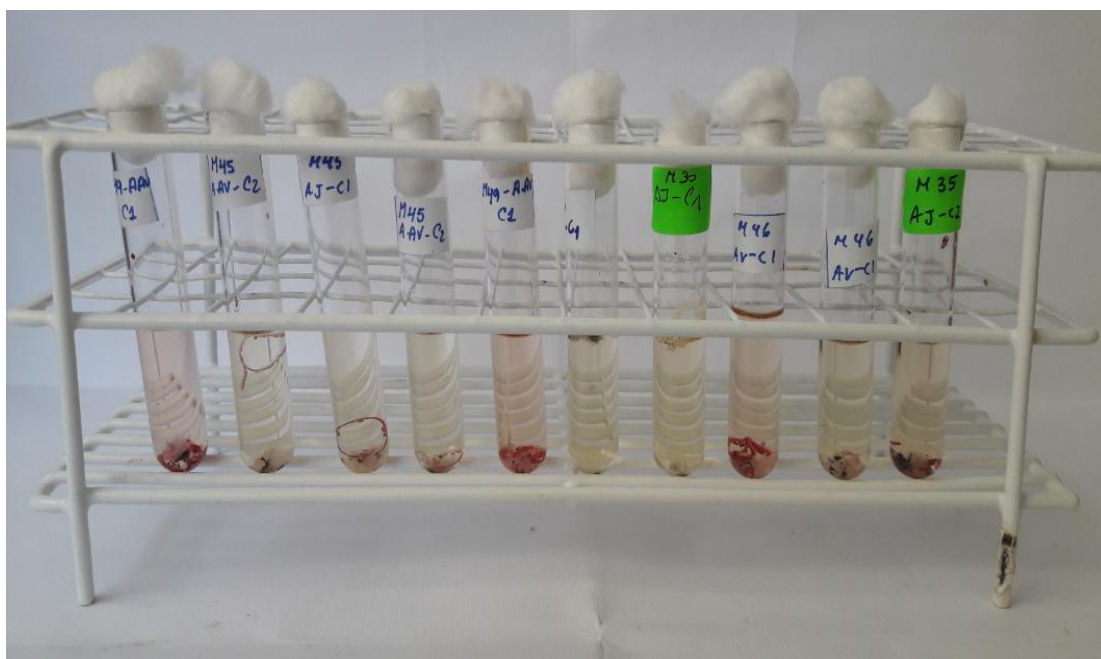


**Figura 34.** Actinobacterias cultivadas en caldo nutritivo con 5% de cloruro de sodio.  
Fuente: Elaboración propia



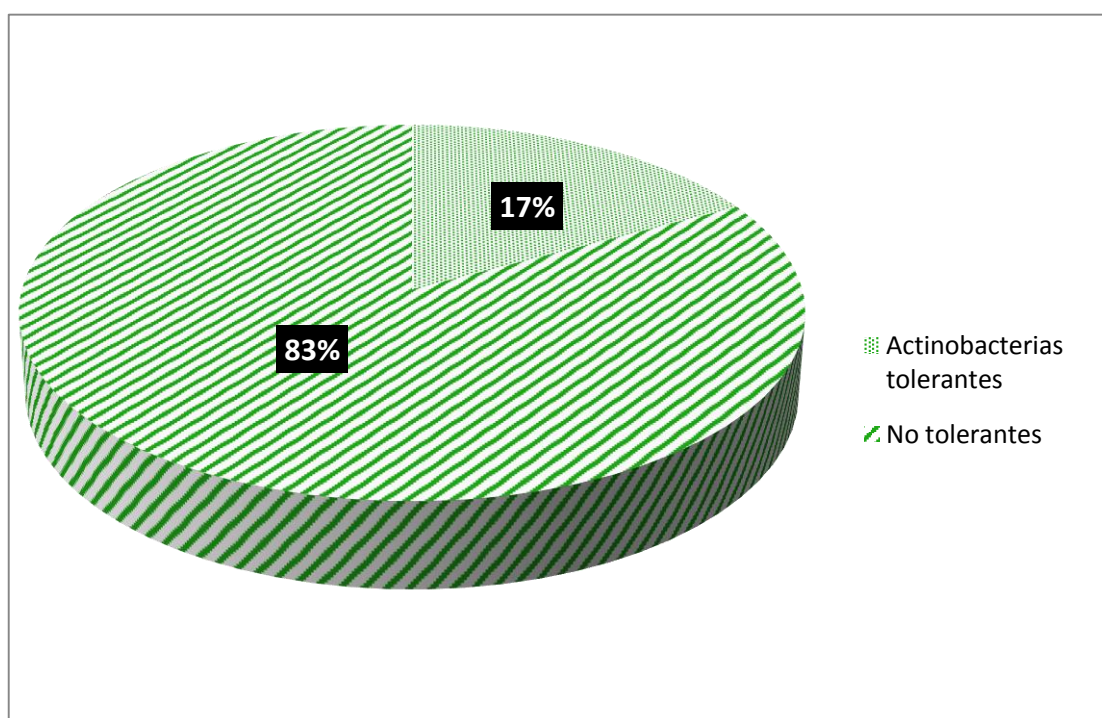
**Figura 35.** Frecuencia de Actinobacterias tolerantes a 5% de cloruro de sodio.  
Fuente: Elaboración propia





**Figura 36.** Actinobacterias cultivadas en caldo nutritivo con 10% de cloruro de sodio.

Fuente: Elaboración propia



**Figura 37.** Frecuencia de Actinobacterias tolerantes a 10% de cloruro de sodio.

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 6.** Características de Actinobacterias seleccionadas

Actinobacterias Código UNPRG	Amonio (ppm)	Fósforo (ppm)	Indoles (ppm)	Tolerancia NaCl 10%
<i>Streptomyces</i> sp. 10.1.3	34,7	23,4	54,4	+
<i>Nocardiopsis</i> sp. 11.1.2	34,0	17,3	59,6	+
<i>Nocardiopsis</i> sp. 14.1.1	3,7	18,3	52,6	+
<i>Streptomyces</i> sp. 14.1.2	4,1	21,4	46,7	+
<i>Nocardiopsis</i> sp. 21.1.2	2,4	19,5	55,3	+
<i>Pseudonocardia</i> sp. 26.2.3	2,3	17,4	55,3	+
<i>Pseudonocardia</i> sp. 30.1.1	5,2	14,5	53,3	+
<i>Pseudonocardia</i> sp. 31.1.2	5,7	16,1	51,3	+
<i>Streptomyces</i> sp. 34.1.1	5,5	18,0	48,0	+
<i>Streptomyces</i> sp. 35.1.2	5,3	17,6	45,6	+
<i>Streptomyces</i> sp. 38.1.2	4,3	20,3	48,7	+
<i>Pseudonocardia</i> sp. 39.2.1	5,2	19,8	48,5	+
<i>Nocardiopsis</i> sp. 40.1.2	2,3	16,6	47,8	+
<i>Streptomyces</i> sp. 42.2.2	33,9	17,0	68,0	+
<i>Streptomyces</i> sp. 45.1.1	35,4	17,5	47,6	+
<i>Streptomyces</i> sp. 45.2.1	32,8	18,4	44,7	+
<i>Streptomyces</i> sp. 45.2.2	34,3	15,7	43,6	+
<i>Pseudonocardia</i> sp. 46.1.1	36,0	16,4	50,4	+
<i>Streptomyces</i> sp. 46.2.1	36,1	17,6	47,6	+
<i>Streptomyces</i> sp. 49.2.1	35,9	16,9	45,8	+
<i>Pseudonocardia</i> sp. 50.2.1	5,3	19,6	49,1	+
<i>Streptomyces</i> sp. 50.2.3	34,3	16,4	55,5	+
<i>Streptomyces</i> sp. 53.1.1	33,4	19,0	53,7	+
<i>Streptomyces</i> sp. 53.2.2	32,0	18,4	47,1	+

Fuente: Elaboración propia

#### 4.5 Efecto de las Actinobacterias en *Solanum lycopersicum* L.

El análisis de los valores de la altura, biomasa radicular y aérea de las plantas de tomate, demostró que el desarrollo vegetativo fue incrementado con la inoculación de las Actinobacterias investigadas. Los valores de la altura de planta a los 30, 45 y 60 días de la inoculación así como la biomasa aérea a los 60 días, presentaron distribución normal ( $p>0,05$ ) y homogeneidad de varianzas ( $p>0,05$ ), por lo que se realizó el análisis de varianza y la prueba de Tukey (Anexos 7 a 10).

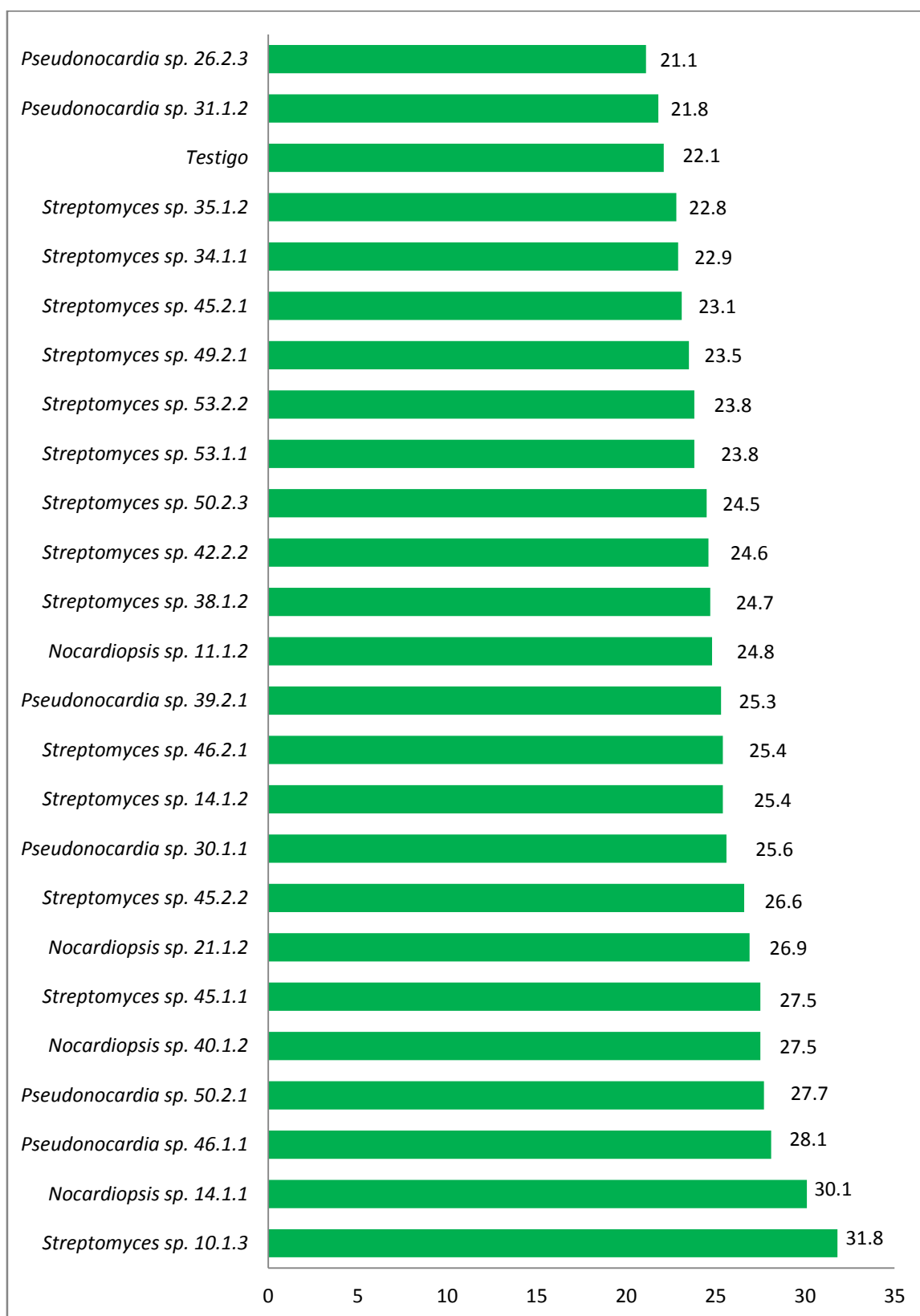
La altura de las plantas de tomate a los 30 días fue de 21,1 a 31,8 cm con *Pseudonocardia* sp.26.2.3 y *Streptomyces* sp. 10.1.3, respectivamente y 22,1 cm en el testigo absoluto (Figuras 38, 39), registrándose índices de efectividad de 3,2% con *Streptomyces* sp.35.1.2 y 43,9% con *Streptomyces* sp.10.1.3 (Tabla 7). El análisis de varianza de los valores de altura demostró alta significancia (Anexo 7) y según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey los mayores valores se alcanzaron con *Streptomyces* sp.10.1.3 y *Nocardiosis* sp.14.1.1, no diferenciándose significativamente entre ellos, pero si de los demás tratamientos (Tabla 8).

La altura de las plantas de tomate a los 45 días fue de 24,4 a 34,7 cm con *Pseudonocardia* sp.26.2.3 y *Streptomyces* sp. 10.1.3, respectivamente y 25,3 cm en el testigo absoluto (Figuras 40, 41), registrándose índices de efectividad de 2% con *Streptomyces* sp.35.1.2 y 37,2% con *Streptomyces* sp.10.1.3 (Tabla 7). El análisis de varianza de los valores de altura demostró alta significancia (Anexo 8) y según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey los mayores valores se alcanzaron con *Streptomyces* sp.10.1.3 y *Nocardiosis* sp.14.1.1, no diferenciándose significativamente entre ellos, pero si de los demás tratamientos (Tabla 8).

La altura de las plantas de tomate a los 60 días (Figura 42) fue de 29,6 a 38,2 cm con *Streptomyces* sp.34.1.1 y *Streptomyces* sp.10.1.3, respectivamente y 28,5 cm en el testigo absoluto (Figuras 43, 44), registrándose índices de efectividad de 3,9% con *Streptomyces* sp.34.1.1 y 34% con *Streptomyces* sp.10.1.3 (Tabla 7). El análisis de varianza de los valores de altura demostró alta significancia (Anexo 9) y según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey los mayores valores se alcanzaron con *Streptomyces* sp.10.1.3 y *Nocardiosis* sp.14.1.1, no diferenciándose significativamente entre ellos, pero si de los demás tratamientos (Tabla 8).



**Figura 38.** Altura de *Solanum lycopersicum* L., 30 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.  
Fuente: Elaboración propia



**Figura 39.** Altura (cm) de *Solanum lycopersicum* L., 30 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 7.** Índices de efectividad en la altura de plantas de *Solanum lycopersicum* L., 30, 45 y 60 días después de la inoculación de Actinobacterias

Tratamientos UNPRG	IE%		
	30días	45días	60días
<i>Streptomyces</i> sp. 10.1.3	43,9	37,2	34,0
<i>Nocardiopsis</i> sp. 11.1.2	12,2	12,3	10,5
<i>Nocardiopsis</i> sp. 14.1.1	36,2	29,3	23,9
<i>Streptomyces</i> sp. 14.1.2	14,9	13,4	12,3
<i>Nocardiopsis</i> sp. 21.1.2	21,7	15,8	12,6
<i>Pseudonocardia</i> sp. 26.2.3	0	0	7,0
<i>Pseudonocardia</i> sp. 30.1.1	15,8	9,9	7,7
<i>Pseudonocardia</i> sp. 31.1.2	0	12,3	13,0
<i>Streptomyces</i> sp. 34.1.1	3,6	3,6	3,9
<i>Streptomyces</i> sp. 35.1.2	3,2	2,0	9,8
<i>Streptomyces</i> sp. 38.1.2	11,8	8,3	6,0
<i>Pseudonocardia</i> sp. 39.2.1	14,5	14,6	15,4
<i>Nocardiopsis</i> sp. 40.1.2	24,4	22,1	18,3
<i>Streptomyces</i> sp. 42.2.2	11,3	14,2	14,7
<i>Streptomyces</i> sp. 45.1.1	24,4	20,2	22,8
<i>Streptomyces</i> sp. 45.2.1	4,5	5,9	6,7
<i>Streptomyces</i> sp. 45.2.2	20,4	14,6	15,4
<i>Pseudonocardia</i> sp. 46.1.1	27,2	21,3	19,7
<i>Streptomyces</i> sp. 46.2.1	14,9	19,0	17,2
<i>Streptomyces</i> sp. 49.2.1	6,3	16,2	13,3
<i>Pseudonocardia</i> sp. 50.2.1	25,3	21,7	19,0
<i>Streptomyces</i> sp. 50.2.3	10,9	8,7	7,4
<i>Streptomyces</i> sp. 53.1.1	7,7	7,5	4,2
<i>Streptomyces</i> sp. 53.2.2	7,7	12,7	11,6

\*Promedio de tres repeticiones

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 8.** Prueba de Tukey de la altura de plantas de *Solanum lycopersicum* L., 30, 45 y 60 días después de la inoculación de Actinobacterias

Tratamientos	Altura (cm)*						
	UNPRG	30días	Sign.	45días	Sign.	60días	Sign
<i>Streptomyces</i> sp. 10.1.3		31,8	a	37,4	a	38,2	a
<i>Nocardiopsis</i> sp. 11.1.2		24,8	defghi	28,4	cdefgh	31,5	cdefgh
<i>Nocardiopsis</i> sp. 14.1.1		30,1	ab	32,7	ab	35,3	ab
<i>Streptomyces</i> sp. 14.1.2		25,4	cdefgh	28,7	cdefgh	32,0	bcdefgh
<i>Nocardiopsis</i> sp. 21.1.2		26,9	cdef	29,3	cdef	32,1	bcdefg
<i>Pseudonocardia</i> sp. 26.2.3		21,1	k	24,4	j	30,5	defgh
<i>Pseudonocardia</i> sp. 30.1.1		25,6	cdefgh	27,8	cdefghi	30,7	defgh
<i>Pseudonocardia</i> sp. 31.1.2		21,8	jk	28,4	cdefgh	32,2	bcdefg
<i>Streptomyces</i> sp. 34.1.1		22,9	hijk	26,2	ghij	29,6	gh
<i>Streptomyces</i> sp. 35.1.2		22,8	hijk	25,8	hij	31,3	defgh
<i>Streptomyces</i> sp. 38.1.2		24,7	efghi	27,4	defghi	30,2	efgh
<i>Pseudonocardia</i> sp. 39.2.1		25,3	cdefgh	29,0	cdefg	32,9	bcdefg
<i>Nocardiopsis</i> sp. 40.1.2		27,5	bcde	30,9	bc	33,7	bcde
<i>Streptomyces</i> sp. 42.2.2		24,6	fghij	28,9	cdefg	32,7	bcdefg
<i>Streptomyces</i> sp. 45.1.1		27,5	bcde	30,4	bcd	35,0	bc
<i>Streptomyces</i> sp. 45.2.1		23,1	hijk	26,8	fghij	30,0	defgh
<i>Streptomyces</i> sp. 45.2.2		26,6	cdefg	29,0	cdef	32,9	bcdefg
<i>Pseudonocardia</i> sp. 46.1.1		28,1	bc	30,7	bc	34,1	bcd
<i>Streptomyces</i> sp. 46.2.1		25,4	cdefgh	30,1	bcde	33,4	bcdef
<i>Streptomyces</i> sp. 49.2.1		23,5	hijk	29,4	cdef	32,3	bcdefg
<i>Pseudonocardia</i> sp. 50.2.1		27,7	bcd	30,8	bc	33,9	bcd
<i>Streptomyces</i> sp. 50.2.3		24,5	fghij	27,5	defghi	30,6	defgh
<i>Streptomyces</i> sp. 53.1.1		23,8	ghijk	27,2	efghij	29,7	fgh
<i>Streptomyces</i> sp. 53.2.2		23,8	ghijk	28,5	cdefgh	31,8	bcdefgh
Testigo		22,1	ijk	25,3	ij	28,5	h

\*Promedio de tres repeticiones

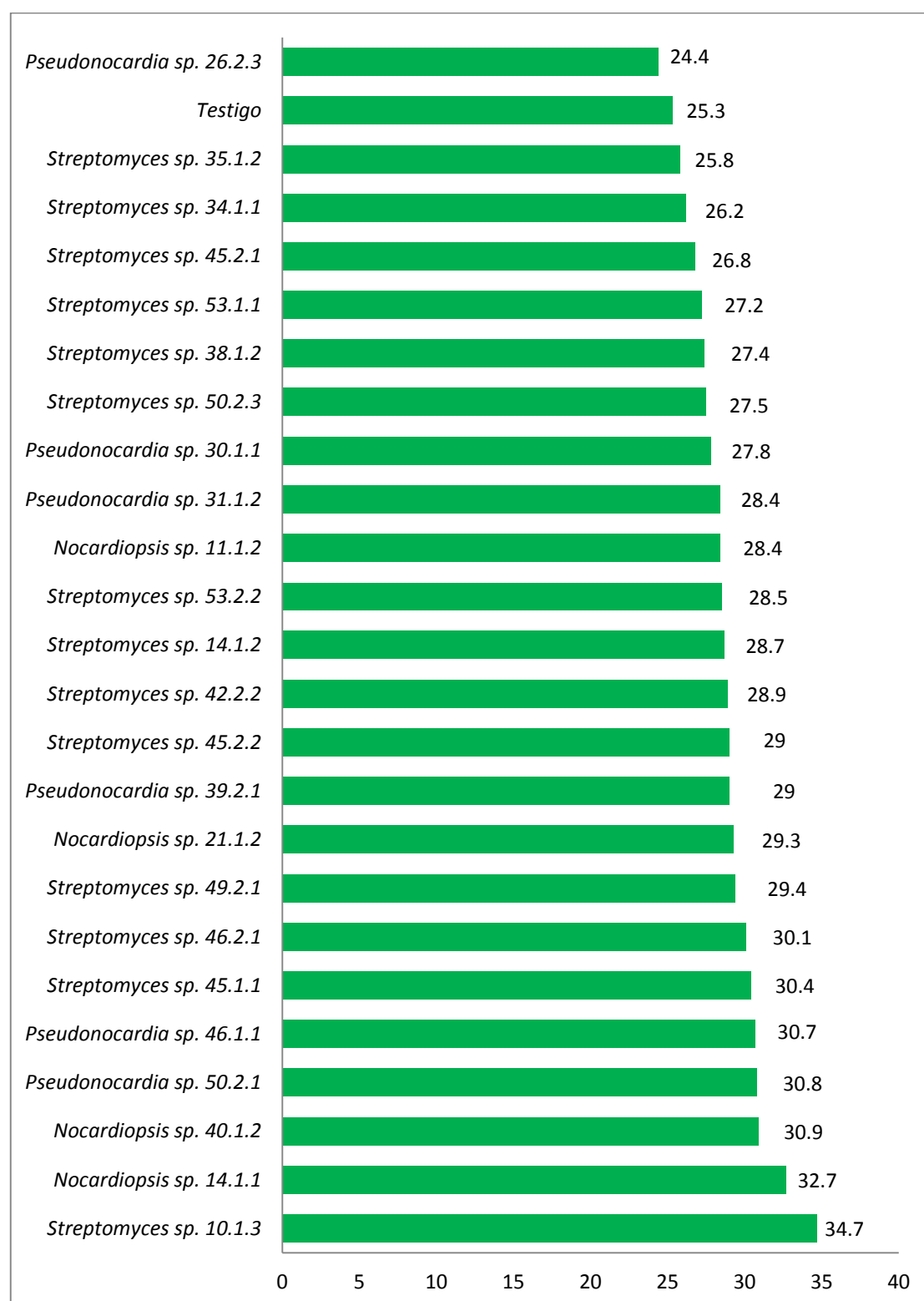
Fuente: Elaboración propia



**Figura 40.** Altura de *Solanum lycopersicum* L., 45 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.

Fuente: Elaboración propia





**Figura 41.** Altura (cm) de *Solanum lycopersicum* L., 45 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.

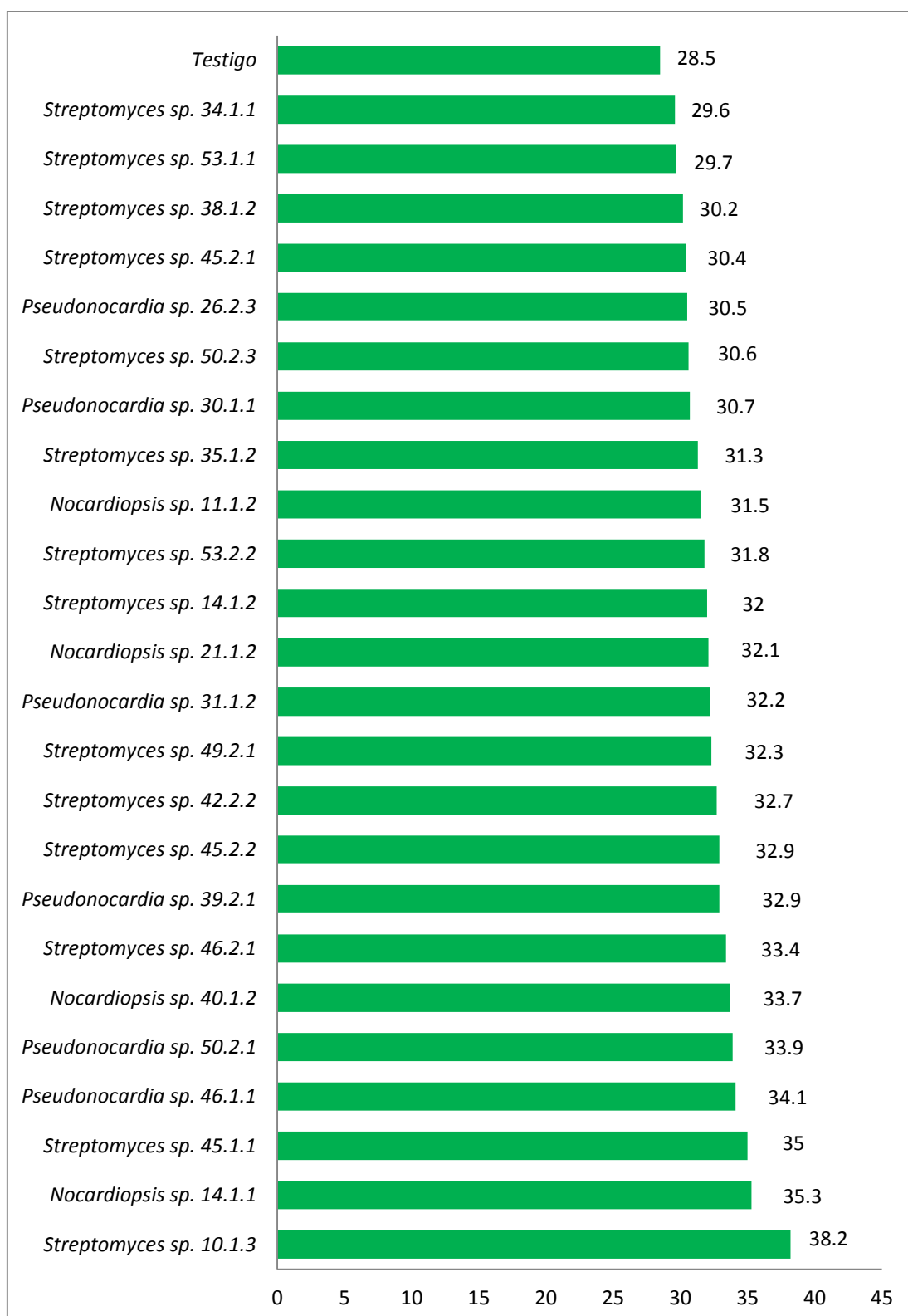
Fuente: Elaboración propia



**Figura 42.** Altura (cm) de *Solanum lycopersicum* L., 60 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.  
Fuente: Elaboración propia



**Figura 43.** Altura de *Solanum lycopersicum* L., 60 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.  
Fuente: Elaboración propia



**Figura 44.** Altura (cm) de *Solanum lycopersicum* L., 60 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.

Fuente: Elaboración propia

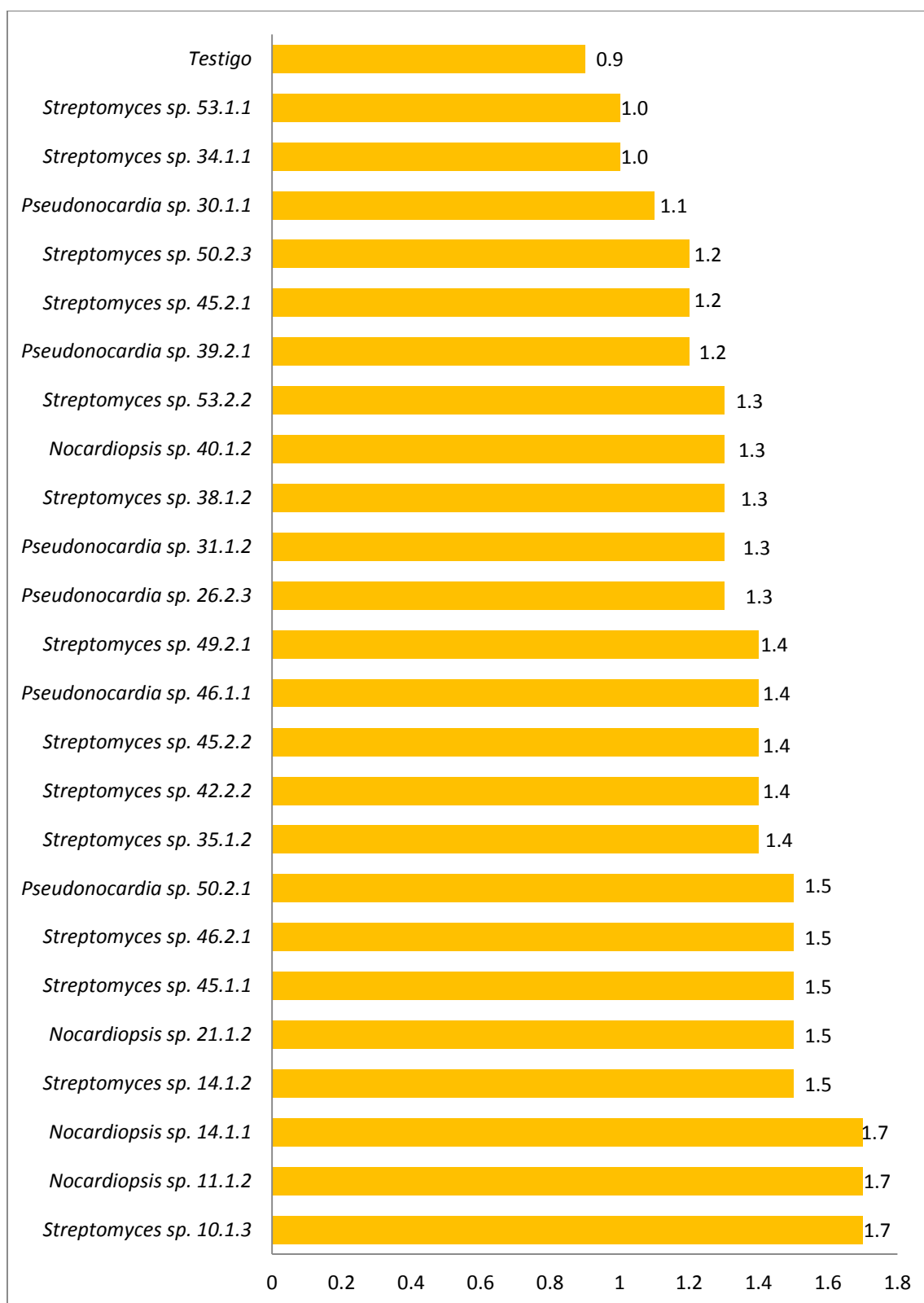
La biomasa radicular seca de las plantas de tomate a los 60 días fue de 1 a 1,7 g con las Actinobacterias y 0,9 g en el testigo absoluto (Figuras 45, 46), registrándose índices de efectividad de 11 a 89% (Tabla 9). La biomasa aérea seca de las plantas de tomate a los 60 días fue de 3,8 a 10,0 g con las Actinobacterias y 4,3 en el testigo absoluto (Figuras 47, 48), registrándose índices de efectividad de 2% a 133% (Tabla 11). El análisis de varianza de los valores de biomasa aérea demostró alta significancia (Anexo 10) y según la prueba múltiple de Tukey el mayor valor correspondió a *Streptomyces* sp.10.1.3, diferenciándose significativamente de los demás tratamientos (Tabla 10).

Los mayores índices de efectividad de las Actinobacterias en las plantas de tomate correspondieron a *Streptomyces* spp. con 43,9% en la altura, 89% en la biomasa radicular y 133% en la biomasa aérea (Tablas 11, 12).



**Figura 45.** Raíces de *Solanum lycopersicum* L., 60 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.

Fuente: Elaboración propia



**Figura 46.** Biomasa radicular (g) de *Solanum lycopersicum* L., 60 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.  
Fuente: Elaboración propia

**Tabla 9.** Índices de efectividad en la biomasa radicular y aérea de *Solanum lycopersicum* L., 60 días después de la inoculación de Actinobacterias

Tratamientos UNPRG	Biomasa (IE%)	
	Radicular	Aérea
<i>Streptomyces</i> sp. 10.1.3	89	133
<i>Nocardiosis</i> sp. 11.1.2	89	19
<i>Nocardiosis</i> sp. 14.1.1	89	14
<i>Streptomyces</i> sp. 14.1.2	67	9
<i>Nocardiosis</i> sp. 21.1.2	67	28
<i>Pseudonocardia</i> sp. 26.2.3	44	9
<i>Pseudonocardia</i> sp. 30.1.1	22	9
<i>Pseudonocardia</i> sp. 31.1.2	44	23
<i>Streptomyces</i> sp. 34.1.1	11	0
<i>Streptomyces</i> sp. 35.1.2	56	0
<i>Streptomyces</i> sp. 38.1.2	44	5
<i>Pseudonocardia</i> sp. 39.2.1	33	0
<i>Nocardiosis</i> sp. 40.1.2	44	30
<i>Streptomyces</i> sp. 42.2.2	56	28
<i>Streptomyces</i> sp. 45.1.1	67	86
<i>Streptomyces</i> sp. 45.2.1	33	0
<i>Streptomyces</i> sp. 45.2.2	56	12
<i>Pseudonocardia</i> sp. 46.1.1	56	35
<i>Streptomyces</i> sp. 46.2.1	67	12
<i>Streptomyces</i> sp. 49.2.1	56	2
<i>Pseudonocardia</i> sp. 50.2.1	67	26
<i>Streptomyces</i> sp. 50.2.3	33	30
<i>Streptomyces</i> sp. 53.1.1	11	0
<i>Streptomyces</i> sp. 53.2.2	44	7

\*Promedio de tres repeticiones

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 10.** Prueba de Tukey de la biomasa radicular y aérea de *Solanum lycopersicum* L., 60 días después de la inoculación de Actinobacterias

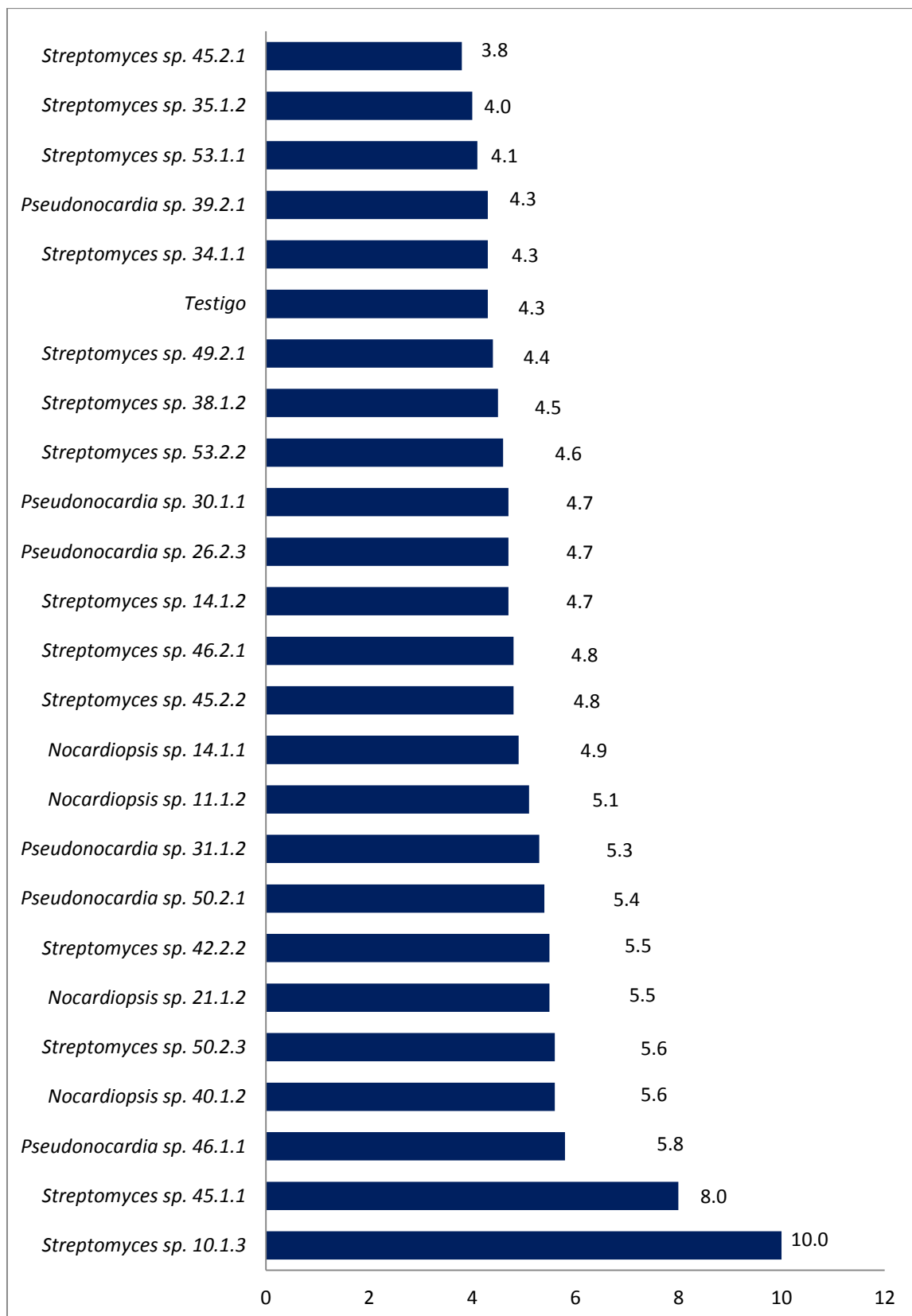
Tratamientos UNPRG	Biomasa (g)		
	Radicular	Aérea	Sign.
<i>Streptomyces</i> sp. 10.1.3	1,7	10,0	a
<i>Nocardiosis</i> sp. 11.1.2	1,7	5,1	ab
<i>Nocardiosis</i> sp. 14.1.1	1,7	4,9	ab
<i>Streptomyces</i> sp. 14.1.2	1,5	4,7	abc
<i>Nocardiosis</i> sp. 21.1.2	1,5	5,5	abcd
<i>Pseudonocardia</i> sp. 26.2.3	1,3	4,7	abcd
<i>Pseudonocardia</i> sp. 30.1.1	1,1	4,7	cde
<i>Pseudonocardia</i> sp. 31.1.2	1,3	5,3	cde
<i>Streptomyces</i> sp. 34.1.1	1,0	4,3	de
<i>Streptomyces</i> sp. 35.1.2	1,4	4,0	abcd
<i>Streptomyces</i> sp. 38.1.2	1,3	4,5	bcde
<i>Pseudonocardia</i> sp. 39.2.1	1,2	4,3	cde
<i>Nocardiosis</i> sp. 40.1.2	1,3	5,6	abcd
<i>Streptomyces</i> sp. 42.2.2	1,4	5,5	abcd
<i>Streptomyces</i> sp. 45.1.1	1,5	8,0	abc
<i>Streptomyces</i> sp. 45.2.1	1,2	3,8	cde
<i>Streptomyces</i> sp. 45.2.2	1,4	4,8	abcd
<i>Pseudonocardia</i> sp. 46.1.1	1,4	5,8	abcd
<i>Streptomyces</i> sp. 46.2.1	1,5	4,8	abcd
<i>Streptomyces</i> sp. 49.2.1	1,4	4,4	abcd
<i>Pseudonocardia</i> sp. 50.2.1	1,5	5,4	abc
<i>Streptomyces</i> sp. 50.2.3	1,2	5,6	cde
<i>Streptomyces</i> sp. 53.1.1	1,0	4,1	de
<i>Streptomyces</i> sp. 53.2.2	1,3	4,6	cde
Testigo	0,9	4,3	e

\*Promedio de tres repeticiones  
Fuente: Elaboración propia





**Figura 47.** Biomasa aérea de *Solanum lycopersicum* L., 60 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.  
Fuente: Elaboración propia



**Figura 48.** Biomasa aérea (g) de *Solanum lycopersicum* L., 60 días después de la inoculación de Actinobacterias, 2017.

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 11.** Rango de valores en las características de los géneros de Actinobacterias seleccionadas

Género de Actinobacterias	Amonio	Fósforo	Indoles	Altura (IE%)			Biomasa 60 días (IE%)	
	ppm	ppm	ppm	30 días	45 días	60 días	Radicular	Aérea
<i>Nocardiopsis</i> spp.	2,3 - 34,0	16,6 - 19,5	47,8 - 59,6	12,2 - 36,2	12,3 - 29,3	10,5 - 23,9	44 - 89	14 - 30
<i>Pseudonocardia</i> spp.	2,3 - 36,0	14,5 - 19,8	48,5 - 55,3	15,8 - 27,2	9,9 - 21,7	7,0 - 19,7	22 - 67	9 - 35
<i>Streptomyces</i> spp.	4,3 - 36,1	15,7 - 23,4	43,6 - 68,0	3,2 - 43,9	2,0 - 37,2	3,9 - 34,0	11 - 89	2 - 133

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 12.** Actinobacterias promotoras de crecimiento en *Solanum lycopersicum* L., durante 60 días en invernadero, 2017

Tratamientos UNPRG	Altura (IE%)	Biomasa	
		Radicular (IE%)	Aérea (IE%)
<i>Nocardiosis</i> sp. 11.1.2	10,5	89	19
<i>Nocardiosis</i> sp. 14.1.1	23,9	89	14
<i>Nocardiosis</i> sp. 21.1.2	12,6	67	28
<i>Nocardiosis</i> sp. 40.1.2	18,3	44	30
<i>Pseudonocardia</i> sp. 26.2.3	7,0	44	9
<i>Pseudonocardia</i> sp. 30.1.1	7,7	22	9
<i>Pseudonocardia</i> sp. 31.1.2	13,0	44	23
<i>Pseudonocardia</i> sp. 46.1.1	19,7	56	35
<i>Pseudonocardia</i> sp. 50.2.1	19,0	67	26
<i>Streptomyces</i> sp. 10.1.3	34,0	89	133
<i>Streptomyces</i> sp. 14.1.2	12,3	67	9
<i>Streptomyces</i> sp. 38.1.2	6,0	44	5
<i>Streptomyces</i> sp. 42.2.2	14,7	56	28
<i>Streptomyces</i> sp. 45.1.1	22,8	67	86
<i>Streptomyces</i> sp. 45.2.2	15,4	56	12
<i>Streptomyces</i> sp. 46.2.1	17,2	67	12
<i>Streptomyces</i> sp. 49.2.1	13,3	56	2
<i>Streptomyces</i> sp. 50.2.3	7,4	33	30
<i>Streptomyces</i> sp. 53.2.2	11,6	44	7

Fuente: Elaboración propia

## V. DISCUSIÓN

Las plantas de *Portulaca oleracea* L. “verdolaga” investigadas por el aislamiento de Actinobacterias, se obtuvieron de suelos fuertemente salinos, con una conductividad eléctrica, CE de  $19,45 \text{ dSm}^{-1}$ . La salinidad es definida como la presencia de una concentración excesiva de sales solubles en el suelo, que limitan el crecimiento de las plantas (Chávez y Álvarez, 2011). Suelos salinos en los que predomina el cloruro de sodio son salino sódicos con una  $\text{CE} > 4 \text{ dSm}^{-1}$ , porcentaje de sodio intercambiable (PSI) mayor de 15 y un  $\text{pH} > 8,5$  (Hernández, 2011). La CE, generalmente estimada con el extracto de saturación, es el principal parámetro para clasificar los suelos (Dávila, 2004; Mogollón, 2014). La salinidad es perjudicial para las plantas porque genera limitaciones nutricionales, citotoxicidad iónica y estrés osmótico (Castelán, 2009); no obstante, existen plantas tolerantes y halófitas que mediante diversos mecanismos superan el estrés salino (Castelán, 2009).

La verdolaga es una planta tolerante a la salinidad, con un valor umbral de tolerancia, en términos de CE del suelo de  $6,3 \text{ dSm}^{-1}$  (García, 2009); no obstante, García (2009) demostró el crecimiento de plantas de verdolaga en sustratos con  $2,5$  a  $15 \text{ dSm}^{-1}$  en el sistema de cultivo hidropónico de bandejas flotantes, evidenciando una buena adaptabilidad a las soluciones salinas. Al respecto Graifenberg *et al.* (2003) reportaron que con el cultivo asociado de verdolaga y tomate disminuyó 36% la concentración de sodio, con incremento de 22% en la producción de tomate, evidenciándose la capacidad de la verdolaga para extraer sodio y cloruro del sustrato de cultivo.

En los ambientes hipersalinos se encuentran microorganismos halófilos y halotolerantes. Los halófilos son capaces de reproducirse y realizar su metabolismo de una manera muy eficaz en presencia de altas concentraciones de sales. Los halotolerantes crecen en presencia y ausencia de altas concentraciones de sal

(González y Peña, 2002). La principal estrategia que desarrollan los microorganismos para adaptarse al estrés osmótico se basa en la acumulación masiva de compuestos en el citoplasma (González y Peña, 2002; Ramírez *et al.*, 2006). El segundo mecanismo de acumulación “salt out” es el más flexible y permite la adaptación a las fluctuaciones en la presión osmótica del medio de halófilos y no halófilos. Se acumulan solutos compatibles que mantienen el equilibrio osmótico y no interfieren en el metabolismo celular.

En las raíces y suelo rizosférico de la maleza desarrollada en suelos con salinidad se aislaron Actinobacterias, microorganismos que son ubicuos (Ghanem *et al.*, 2000) y que sobreviven a condiciones adversas, gracias a su versatilidad metabólica (Ezziyyani *et al.*, 2004), formación de esporas (Flardh & Buttner, 2009) y gránulos de polihidroxicanoatos (Franco *et al.*, 2009). Las Actinobacterias también han sido reportadas en cultivos agrícolas como maíz (Hernández *et al.*, 2014), pimiento (Ezziyyani *et al.*, 2004), cacao (Barreto *et al.*, 2008), vid (Franco *et al.*, 2009), papa (Rico, 2009), plátano (Otero, 2011), piñón blanco (Qin *et al.*, 2015) así como también en sedimentos de ríos, lagos (Leiva *et al.*, 2004) y mares (León *et al.*, 2007).

Las Actinobacterias se identificaron fenotípicamente coincidiendo con Rico (2009), Franco *et al.* (2010), Otero (2011) e Infante y Zurita (2013), quienes identificaron aislados de trébol blanco, papa, plátano y malezas, respectivamente; no obstante, debido a la diversidad metabólica de estas bacterias se requiere la caracterización molecular (Franco *et al.*, 2010; Prieto *et al.*, 2015).

Los géneros de Actinobacterias identificados en verdolaga fueron reportados previamente por Ramírez *et al.* (2006) en suelos salinos (*Nocardiopsis*, *Nocardioides*), Flores y Pisfil (2014) en salinas (*Streptomyces*, *Nocardia*), Franco *et al.* (2010) en trébol blanco (*Saccharopolyspora*), Balakrishna *et al.* (2012) en forestales (*Streptomyces*), Gangwar *et al.* (2014) en *Musa acuminata* “banano” (*Nocardia*, *Saccharopolyspora*, *Streptomyces*) y Qin *et al.* (2015) en tejidos de raíces, tallos, hojas y semillas de piñón blanco (*Nocardioides*, *Pseudonocardia*, *Nocardiopsis*, *Nocardia*, *Streptomyces*).

El género *Streptomyces* predominó en las Actinobacterias aisladas de verdolaga. De igual manera, Rico (2009), Núñez y Vásquez (2013), Gangwar *et al.* (2014) y Qin *et al.* (2015) encontraron a los estreptomicetos predominantes en aislados de papa, tomate, banano y piñón blanco. Según Franco (2008) y Gangwar *et al.* (2014) con los métodos convencionales de aislamiento, el 95% de los actinomicetos pertenece al género *Streptomyces*, seguido de *Nocardia* y *Micromonospora*.

La utilización biotecnológica de los microorganismos beneficiosos como la PGPR requiere de su investigación fisiológica, para seleccionar aquellas cepas con mayor potencial (Carcaño *et al.*, 2006). En este contexto, se investigó la fijación de nitrógeno, solubilización de fosfato y producción de indoles, características consideradas por Otero (2011) y Salazar y Ordoñez (2013) como indicadores del potencial para promover el crecimiento en plantas. También se puede investigar la producción de enzimas (da Silva *et al.*, 2008), sideróforos (Srividya *et al.*, 2012) y actividad antagónica a fitopatógenos radiculares (Rico, 2009; Otero, 2011) y foliares (Suwan *et al.*, 2012).

La capacidad para fijar nitrógeno *in vitro*, permitió a las Actinobacterias desarrollar en medio de cultivo sin nitrógeno. De igual manera, se demostró la fijación de nitrógeno por los géneros *Streptomyces* y *Nocardia* (Franco *et al.*, 2010), *Nocardioides* y *Pseudonocardia* (Sánchez, 2017). La concentración máxima de amonio cuantificado superó al rango 1,4 - 34,0 ppm reportado para Actinobacterias aislados de tomate (Núñez y Vásquez, 2013), maíz (Arrunátegui, 2015) y espárrago (Sánchez, 2017).

La solubilización de fosfato por las Actinobacterias previamente fue reportada en *Streptomyces* y *Pseudonocardia* (Gangwar *et al.*, 2014), *Nocardia* y *Saccharopolyspora* (Franco *et al.*, 2010), *Nocardioides* (Sánchez, 2017) y *Nocardiosis* (Bhosale & Kadam, 2015). La concentración máxima de fósforo soluble cuantificada superó el rango 14,8-28,8 ppm registrado con Actinobacterias aisladas de piñón blanco (Gómez y Yarlaqué, 2013).

Las Actinobacterias produjeron indoles *in vitro*, capacidad demostrada previamente en los géneros *Streptomyces*, *Nocardia*, *Saccharopolyspora* y *Pseudonocardia* (Gangwar *et al.*, 2014), *Nocardiosis* (Sathya *et al.*, 2017) y *Nocardioides* (Sánchez, 2017). La concentración máxima de indoles fue 80,3 ppm valor que está en el rango 13-150 ppm registrado con Actinobacterias aisladas de papa (Rico, 2009), trébol blanco (Franco *et al.*, 2010), plátano (Otero, 2011), cacao (López, 2013) y banano (Gangwar *et al.*, 2014).

Los principales cationes de las sales solubles en los suelos salinos son el sodio, calcio y magnesio y los aniones más significativos son el sulfato, cloruro y bicarbonato. Las sales de mayor interés son los sulfatos, bicarbonatos y los cloruros de bases de calcio, magnesio y sodio (Partida *et al.*, 2006). Suelos salinos en los que predomina el cloruro de sodio son salino-sódicos. Por esta razón, se investigó la tolerancia de las Actinobacterias al cloruro de sodio, coincidiendo con da Silva *et al.* (2008).

La capacidad de las Actinobacterias para tolerar y desarrollar en cloruro de sodio también fue reportada por Gangwar *et al.*, (2015) en aislados de tejidos de *Embllica officinales* Gaertn. Los microorganismos pueden ser clasificados en función de la cantidad de sal que requieren en halófilos extremos (>20% NaCl), moderados (más de 10 a 20%), débiles (0,5 a 10%) y halotolerantes (Ramírez *et al.*, 2006). Al respecto Ramírez *et al.*, (2006) mencionaron reportes de crecimiento de Actinobacterias en 1-20% NaCl (*Nocardiopsis* spp.), 5-25% NaCl (*Actinopolyspora* spp.), 1-6% NaCl (*Nocardioides* spp.) y 10% NaCl (*Saccharomonospora* y *Streptomyces* spp.).

Las Actinobacterias fijadoras de nitrógeno, solubilizadoras de fosfato y productoras de indoles incrementaron la altura, biomasa aérea y radicular de las plantas de tomate, cultivadas en un suelo con salinidad, demostrando su potencial como promotoras de crecimiento en plantas. Stechmann (2011), Aly *et al.* (2012) y Naz *et al.* (2012) concluyeron que las PGPR favorecen a los cultivos agrícolas, sobre todo cuando se presentan condiciones desfavorables. En la rizósfera y raíces de plantas tolerantes y halófilas existen PGPR que se adaptaron al ambiente extremo y como consecuencia maximizaron sus capacidades (Chávez y Álvarez, 2011). En este contexto, las PGPR producen la enzima amino ciclopropano carboxilasa desaminasa (ACC desaminasa) que convierte al precursor del etileno en amonio y  $\alpha$ -cetobutirato (Glick, 2014). Como consecuencia, disminuye el nivel de etileno, que normalmente inhibe la elongación de las raíces y las plantas responden favorablemente en condiciones adversas (Glick *et al.*, 2007).

La promoción de crecimiento en plantas de tomate por las Actinobacterias reportada también por Dias *et al.* (2017) está asociada a mecanismos como la fijación de nitrógeno (Salazar y Ordoñez, 2013), síntesis de auxinas (Otero, 2011), solubilización de fosfatos (Núñez y Vásquez, 2013) y también a mecanismos indirectos o de control biológico (Anitha & Rabeeth, 2009; Srividya *et al.*, 2012). El efecto benéfico de las Actinobacterias se evidencia con el incremento de la germinación de semillas de lechuga y altura de plántulas (Salazar y Ordoñez, 2013), número de raíces en maíz (Postolaky *et al.*, 2012), altura y longitud de raíces en chili (Suwan *et al.*, 2012), área foliar y longitud de raíces en piñón blanco (Qin *et al.*, 2015), biomasa foliar y radicular en trébol blanco (Gómez *et al.*, 2011), biomasa total, número de flores y vainas de haba (Hewedy, 2011) y número de tubérculos en papa (Rico, 2009).

La biomasa radicular de las plantas de tomate fue incrementada hasta 89% por las especies de *Streptomyces* y *Nocardiopsis*, productoras de indoles. El efecto positivo de las PGPR siempre está relacionado con el incremento de la longitud de las



raíces laterales, así como el número y longitud de los pelos radiculares, cambios que se asocian con la síntesis de auxinas, citoquininas y giberelinas (Loredo *et al.*, 2004). La disminución del crecimiento radicular bajo condiciones salinas está relacionada con la disminución del nivel de fitohormonas endógenas. El AIA es una de las más importantes auxinas que regula la diferenciación de tejidos vasculares, elongación, crecimiento, estimulación de germinación, formación de raíces laterales y resistencia a condiciones desfavorables (Egamberdieva *et al.*, 2015).

## VI. CONCLUSIONES

- 6.1** En la raíz y suelo rizosférico de verdolaga fueron aisladas Actinobacterias de los géneros *Streptomyces* (45,1%), *Nocardiopsis* (21,1%), *Nocardia* (16,7%), *Pseudonocardia* (11,8%), *Saccharopolyspora* (3,4%) y *Nocardioides* (1,9%).
- 6.2** Las Actinobacterias fijaron *in vitro* nitrógeno (1,0 a 36,3 ppm de amonio), solubilizaron fosfato tricálcico (11,5 a 32,7 ppm de fósforo soluble) y produjeron indoles (22,8 a 80,3 ppm).
- 6.3** El 17,2 % de las Actinobacterias mostraron tolerancia a 5 y 10% de cloruro de sodio.
- 6.4** Las Actinobacterias seleccionadas fueron las que toleraron el 10% de cloruro de sodio y alcanzaron los mayores valores en la concentración de amonio: *Streptomyces* sp. 50.2.3, 49.2.1, 46.2.1, 45.2.2, 45.1.1, 10.1.3; *Pseudonocardia* sp. 46.1.1, *Nocardiopsis* sp. 11.1.2; concentración de fósforo soluble: *Streptomyces* sp. 53.2.2; 53.1.1; 38.1.2, 14.1.2, 10.1.3, *Pseudonocardia* sp. 50.2.1, 39.2.1, *Nocardiopsis* sp. 21.1.2 y concentración de indoles: *Streptomyces* sp. 53.1.1, 50.2.3; 42.2.2; 10.1.3., *Pseudonocardia* sp. 30.1.1, 26.2.3 y *Nocardiopsis* sp. 21.1.2 y 11.1.2.
- 6.5** Los cultivos de Actinobacterias demostraron potencial como promotoras de crecimiento, al incrementar significativamente ( $p < 0,05$ ) la altura con IE = 2,0 a 43%, biomasa radicular con IE = 11 a 89% y biomasa aérea con IE = 2 a 133% en plantas de tomate desarrollados en un suelo con salinidad.

## **VII. RECOMENDACIONES**

- 7.1** Determinar el efecto de *Nocardiopsis* sp. 11.1.2, 14.1.1, 21.1.2, 40.1.2; *Pseudonocardia* sp. 26.2.3, 30.1.1, 31.1.2, 46.1.1, 50.2.1 y *Streptomyces* sp. 10.1.3, 14.1.2, 38.1.2, 42.2.2, 45.1.1, 45.2.2, 46.2.1, 49.2.1, 50.2.3, 53.2.2, en el desarrollo vegetativo y rendimiento de tomate en condiciones de campo.
- 7.2** Investigar sustratos orgánicos de bajo costo para el crecimiento masivo de las bacterias promotoras de crecimiento en tomate.
- 7.3** Identificar a nivel molecular las bacterias promotoras de crecimiento en tomate.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adjanohoun, A., Allagbe, M., Noumavo, P. A., Gotoechan, H., Sikirou, R., Dossa, K. K., GleleKakai, R., Kotchoni, S. & Baba, L. (2011). Effects of plant growth promoting rhizobacteria on field grown maize. *Journal of Animal & Plant Sciencies*, 11(3), 1457-1465.
- Aguilar, J., Xiqui, L., García, S. y Baca, B. (2008). Producción del ácido indol-3-acético en *Azospirillum*. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 50(1-2), 29-37.
- Alfonso, E., Leyva, A. y Hernández, A. (2005). Microorganismos benéficos como biofertilizantes eficientes para el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Revista Colombiana de Biotecnología*, 7(2), 47-54.
- Altamirano, C., Carreño, C., Plasencia, V., Ramírez, L., Silva, J. y Ugaz, F. (2014). *Bacterias rizosféricas y endófitas fijadoras de nitrógeno*. Lambayeque, Perú: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.
- Alvarado, P. y Valderrama, M. (2014). *Caracterización de los géneros Burkholderia y Pseudomonas solubilizadoras de fosfato aisladas de Zea mays L. en el distrito de Reque en Lambayeque, marzo – mayo, 2014*. (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Aly, M., El Sayed, H., El- Sayed, A. & Jastaniah, S. (2012). Synergistic effect between *Azotobacter vinelandii* and *Streptomyces* sp. isolated from saline soil on seed germination and growth of wheat plants. *Journal of American Science*, 8(5), 667-677.
- Anitha, A. & Rabeeth, M. (2009). Control of *Fusarium* wilt of tomato by bioformulation of *Streptomyces griseus* in green house condition. *African Journal of Basic & Applied Sciences*, 1(1-2), 9-14.
- Arrunátegui, J. (2015). *Streptomyces spp. aisladas de la rizósfera de Zea mays L. "maíz" y de malezas como potenciales promotoras del crecimiento de plantas, Lambayeque*. (Tesis de Maestría). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Perú.

- Balakrishna, G., Shiva, A. & Kumar, P. (2012). Isolation of phosphate solubilizing actinomycetes from forest soils of Mahabubnagar district. *IOSR Journal of Pharmacy*, 2(2), 271-275.
- Balemi, T., Pal, N & Saxena, K. (2007) Response of onion (*Allium cepa* L.) to combined application of biological and chemical nitrogenous fertilizers. *Acta Agriculturae Slovenica*, 89(1), 107-114.
- Bandera, R. (2013). *Rehabilitación de suelos salino-sódicos: Evaluación de enmiendas y de especies forrajeras*. (Tesis de Maestría). Universidad Nacional de la Plata, Buenos Aires, Argentina.
- Barreto T., da Silva A., Soares A. & de Souza J. (2008). Las diversidades de la población y la diversidad genética de los actinomicetos asociados a la rizósfera de *Theobroma cacao*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 39(3), 464-470.
- Bashan, Y., Holguin, G. y Ferrera, R. (1996). Interacciones entre plantas y microorganismos benéficos. I. *Azospirillum.Terra*, 14, 159-194.
- Beltrán, M. (2014). La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal. *Corpoica, Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 15(1), 101-113.
- Bhattacharyya, P. & Jha, D. (2012). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal Microbiology and Biotechnology*, 28, 1327-1350.
- Bhosale, H. & Kadam, T. (2015). Generic diversity and a comparative account on plant growth promoting characteristics of actinomycetes in roots and rhizosphere of *Saccharum officinarum*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4(1), 230-240.
- Bojórquez, I., Hernández, A., García, D., Nájera, O., Flores, F., Madueño, A. y Bugarín, R. (2007). Características de los suelos cambisoles y fluvisoles de la llanura costera norte de Nayarit, México. *Cultivos tropicales*, 28(1), 19-24.
- Cadena, S. y Martínez, B. (2011). *Caracterización de cepas de Pseudomonas spp. y su efecto en la germinación y emergencia de Zea mays L. "maíz" en Lambayeque* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Camarena, G. y de la Torre, R. (2007). Resistencia sistémica adquirida en plantas: Estado Actual. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 13(2), 157-162.
- Camelo, M., Vera, S. y Bonilla, R. (2011). Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. *Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 12(2), 159-166.

- Carcaño, M., Ferrera, R., Pérez, J., Molina, J. y Bashan, Y. (2006). Actividad nitrogenasa, producción de fitohormonas, sideróforos y antibiosis en cepas de *Azospirillum* y *Klebsiella* aisladas de maíz y teocintle. *TERRA Latinoamericana*, 24(4), 493-502.
- Carreño, C. (2009). *Efecto de la inoculación de bacterias nativas solubilizadoras de fósforo en el desarrollo y rendimiento de tres cultivos agrícolas en Mochumí, Lambayeque, Perú*. (Tesis de Doctorado). Universidad Nacional de Trujillo, La Libertad, Perú.
- Carreño, C., Escobar, C., García, F., Horna, Y., Mendoza, G. y Muñoz, H. (2010). *Rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas (PGPRs)*. Lambayeque, Perú: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.
- Castelán, M. (2009). *Plantas mexicanas adaptadas a la sequía: Dos nuevos modelos para el estudio de la tolerancia al estrés hídrico*. (Tesis de Maestría). Instituto Politécnico Nacional, México.
- Castro, L., Flores, A., Rodríguez, A., Aguilar, M., Aguilar, C. y Rodríguez, R. (2011). Aislamiento y caracterización de microorganismos halófilos de suelos salinos de cuatro Ciénagas Coahuila, México. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 3(5), 33-43.
- Chávez, L. y Álvarez, A. (2011). La selección de variedades tolerantes. Una alternativa para la rehabilitación de suelos afectados por la salinidad. *Revista Granma Ciencia*, 15(3), 1-10.
- Chinnusamy, V., Jagendorf, A. & Zhu, J. (2005). Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop Science*, 45(1), 437-448.
- Córdova, L. (2016). *Efecto de Azospirillum spp. nativas en el desarrollo vegetativo de Zea mays L. "maíz", en invernadero*. (Tesis de Maestría). Universidad Nacional de Trujillo, Perú.
- Da Silva, C.; Fermino, A. & da Silva, M. (2008). Characterization of Streptomycetes with potential to promote plant growth and biocontrol. *Scientia Agricola (Piracicaba, Brazil)*, 65(1), 50-55.
- Dávila, J. (2004). *Elementos para una agricultura orgánica e introducción de cultivos alternativos para suelos con problemas de salinidad*. (Tesis de Maestría). Universidad Autónoma de Nuevo León, México.
- Delgado, Y., Cupull, R., Pérez, C., Sánchez, A. y Vélchez, M. (2003). Efecto de *Azotobacter* spp. en la estimulación de germinación y el desarrollo de posturas de *Coffea arabica* L. *Centro Agrícola*, 30(1), 26-32.
- Dias, M., Bastos, M., Xavier, V., Cassel, C., Astarita, L. & Santarém, E. (2017). Plant growth and resistance promoted by *Streptomyces* spp. in tomato. *Plant Physiology and Biochemistry*, 118, 479-493.
- Díaz, P., Ferrera, R., Almaraz, J. y Alcántara, G. (2001). Inoculación de bacterias promotoras del crecimiento en lechuga. *Terra*, 19(4), 327-335.

- Díaz, S. (2007). *NAD – glutamato deshidrogenasa de Haloferax mediterranei: clonaje, secuenciación y expresión: Purificación y propiedades de la enzima nativa y recombinante*. (Tesis de Doctorado). Universidad de Alicante, España.
- Doumbou, C., Hamby, M., Crawford, D. & Beaulieu, C. (2002). Actinomycetes, promising tools to control plant diseases and to promote plant growth. *Phytoprotection*, 82, 85-102.
- Dyall, M. (2008). *The Halohandbook: Protocols for haloarchaeal genetics*. Recuperado de <http://www.haloarchaea.com>
- Egamberdieva., D., Jabborova, D. & Hashem, A. (2015). *Pseudomonas* induces salinity tolerance in cotton (*Gossypium hirsutum*) and resistance to *Fusarium* root rot through the modulation of indole-3-acetic acid. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22, 773–779.
- Egamberdiyeva, D. (2007). The effect of plant growth promoting bacteria on growth and nutrient uptake of maize in two different soils. *Applied Soil Ecology*, 36(2-3), 184-189.
- El-Tarabily, K. & Sivasithamparam, K. (2006). Non-streptomycete actinomycetes as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. *Soil Biology & Biochemistry*, 38, 1505– 1520.
- Ezziyyani, M., Pérez, C., Requena, M., Rubio, L. y Candela, M. (2004). Biocontrol por *Streptomyces rochei* –Ziyani–, de la podredumbre del pimiento (*Capsicum annuum* L.) causada por *Phytophthora capsici*. *Anales de Biología*, 26, 69-78.
- Fernández, O. (2001). Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. *Manejo Integrado de Plagas*, 62, 96-100.
- Fernández J., Niñirola, D., Vicente, M., Conesa, E., López, J. y González, A. (2009). Efecto de la densidad de plantación y del tipo de sustrato sobre la producción de verdolaga (*Portulaca oleracea* L.) en un cultivo hidropónico de bandejas flotantes. *Seminario de Técnicos y Especialistas en Horticultura*, 37, 707-714
- Flardh, K. & Buttner, M. (2009). *Streptomyces* morphogenetics: Dissecting differentiation in a filamentous bacterium. *Reviews*, 7, 36-49.
- Flores, R. y Pisfil, E. (2014). *Aislamiento, caracterización y actividad antibacteriana de actinomicetos halófilos de las Salinas de Mórrope frente a Staphylococcus aureus meticilino-resistente y Escherichia coli productor de betalactamasas de espectro extendido (BLEE)*. (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Franco, M. (2008). *Evaluación de caracteres PGPR en actinomicetos e interacciones de estas rizobacterias con hongos formadores de micorrizas*. (Tesis de Doctorado). Universidad de Granada, Granada, España.

- Franco, M.; Gómez, D.; Castro, N. y Rendón, M. (2009). Polihidroxialcanoatos en actinomicetos nativos de suelos colombianos. *Revista Peruana de Biología*, 16(1), 115 – 118.
- Franco M., Quintana A., Duque C., Suarez C., Rodríguez M. & Barea, J. (2010). Evaluation of actinomycete strains for key traits related with plant growth promotion and mycorrhiza helping activities. *Applied Soil Ecology*, 45, 209–217.
- Gangwar, M., Khushboo & Saini, P. (2014). Diversity of endophytic actinomycetes in *Musa acuminata* and their plant growth promoting activity. *Journal of Biological and Chemical Sciences (JBSCS)*, 1(1), 13-23.
- Gangwar, M., Kaur, N., Saini, P. & Kalia, A. (2015). The diversity, plant growth promoting and anti-microbial activities of endophytic actinomycetes isolated from *Embllica officinalis* Gaertn. *International Journal of Advanced Research*, 3(4), 1062-1071.
- García, M., Farias, R., Peña, J. y Sánchez, J. (2004). Inoculación del trigo var. Pavón con *Azospirillum* spp. y *Azotobacter beijerinckii*. *Terra Latinoamericana*, 23, 65 – 72.
- García, F. (2009). *Resistencia a la salinidad en el agua de riego de cuatro especies silvestres de interés hortícola en la región de Murcia*. (Tesis de Pregrado). Escuela Técnica superior de Ingeniería Agronómica, Murcia, España.
- García, F. y Muñoz, H. (2010). *Caracterización de cepas nativas de Azospirillum spp. y su efecto como promotoras del desarrollo vegetativo de arroz (Oryza sativa)*. (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo, Lambayeque, Perú.
- García, F., Muñoz, H., Carreño, C. y Mendoza, G. (2010). Caracterización de cepas nativas de *Azospirillum* spp. y su efecto en el desarrollo de *Oryza sativa* L. “arroz” en Lambayeque. *Scientia Agropecuaria*, 1, 107 – 116.
- Ghanem, N., Sabry S., El-Sherif, Z. & El-Ela, G. (2000). Isolation and enumeration of marine actinomycetes from seawater and sediments in Alexandria. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 46, 105–111.
- Glick, B., Cheng Z., Czarny J., & Duan. J. (2007). Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. *European Journal of Plant Pathology*, 119, 329-339.
- Glick, B. (2014). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research*, 169, 30–39.
- Gómez, R., Bello, D., Prada, L., Rodríguez, M., Gómez, L. y Franco, M. (2011). Actinomicetos mineralizadores de fosfato involucrados en la interacción radical de *Glomus* sp.-Trébol blanco. *Agronomía Mesoamericana*, 22(2), 317-327.



- Gómez, C. y Yarlaqué, D. (2013). *Especies de Streptomyces spp. asociadas a la rizósfera de Jatropha curcas L. "piñon blanco", y su potencial como promotoras del crecimiento de plantas.* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- González, J. y Peña, A. (2002). Estrategias de adaptación de microorganismos halófilos y *Debaryomyces hansenii* (Levadura halófila). *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 44(3-4), 137-156.
- Goudie, A. (2003). Enhanced Salinisation. *Developments in Water Science*, 50, 287-293.
- Graifenberg, A., Botrini, L., Giustiniani, L., Filippi, F. & Curadi, M. (2003). Tomato growing in saline conditions with biodesalinating plants: *Salsola soda* L., and *Portulaca oleracea* L. *Acta Horticulturae*, 609, 301–305.
- Guillen, R., Hernández, F., Gallegos, G., Rodríguez, R., Aguilar, C., Padron, E. y Reyes, M. (2006). *Bacillus* spp., como biocontrol en un suelo infestado con *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani* Kühn y *Phytophthora capsici* Leonian y su efecto en el desarrollo y rendimiento del cultivo de chile (*Capsicum annuum* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología*, 24(2), 105-114.
- Hernández, A., López, R., Rodríguez, A. y Barrios, J. (2000). *Temperatura, pH y conductividad eléctrica en el compostaje de cuatro estiércoles.* (Tesis de Pregrado). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, México.
- Hernández, A., Heydrich, M., Velásquez, M. y Hernández, A. (2006). Perspectivas del empleo de rizobacterias como agentes de control biológico en cultivos de importancia económica. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 24(1), 42-49.
- Hernández, J. (2011). *Biorrecuperación de suelos salinos con uso de materiales orgánicos.* (Tesis de Doctorado). Universidad Politécnica de Madrid, España.
- Hernández, R., Fernández, C. y Baptista, P. (2014). *Metodología de la Investigación*, 6ta edición, México: Mc Graw, Hill Interamericana Editores S.A.
- Hewedy, M. (2011). Associative effect of the rhizobacteria *Streptomyces chibaensis* and commercial biofertilizers on the growth, yield and nutritional value of *Vicia faba*. *Journal of American Science*, 7(5), 552-559.
- Idris, E., Bochow H., Ross, H. & Borris, R. (2004). Use of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent. VI. Phytohormone-like action of culture filtrates prepared from plant growth-promoting *Bacillus amyloliquefaciens* FZB24, FZB42, FZB45 and *Bacillus subtilis* FZB37. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 111(6), 583-597.

- Infante, E. y Zurita, D. (2013). *Potencial como promotoras del crecimiento de plantas de los actinomicetos aislados de la rizósfera de malezas asociadas a Zea mays L. "maíz" en Lambayeque, 2013*. (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Karnwal, A. (2009). Production of indole acetic acid by fluorescent *Pseudomonas* in the presence of L-tryptophan and rice root exudates. *Journal of Plant Pathology*, 91(1), 61-63.
- Kloepper, J. & Schroth, M., (1978) *Plant growth promoting rhizobacteria on radishes*, In: *Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria*, 879–882. Angers, France.
- Kloepper, J. (2003). *A review of mechanisms for plant growth promotion by PGPR. 6th International PGPR workshop, 5-10 october*. Calicut, India.
- Lara, C., Villalba, M. y Oviedo, L. (2007). Bacterias fijadoras asimbióticas de nitrógeno de la zona agrícola de San Carlos, Colombia. *Revista Colombiana de Biotecnología*, IX(2), 6-14.
- Lara, C., Oviedo, L. y Betancur, C. (2011). Bacterias nativas con potencial en la producción de ácido indolacético para mejorar los pastos. *Zootecnia Tropical*, 29(2), 187-194.
- Layton, C., Maldonado, E., Monroy, L., Corrales, L. y Sánchez, L. (2011). *Bacillus* spp., perspectiva de su efecto biocontrolador mediante antibiosis en cultivos afectados por fitopatógenos. *Nova - Publicación Científica en Ciencias Biomédicas*, 9(15), 177-187.
- Leiva, S., Yañez, M., Zaror, L., Rodríguez, H. y García, H. (2004). Actividad antimicrobiana de actinomicetos aislados desde ambientes acuáticos del sur de Chile. *Revista Médica de Chile*, 132, 151-159.
- León J., Liza L., Soto I., Cuadra D., Patiño L. y Zerpa R. (2007). Actinomicetos bioactivos de sedimento marino de la costa central del Perú. *Revista Peruana de Biología*, 14(2), 259-70.
- León, Y., Martínez, R., Hernández, J. y Cruz Y. (2011). Resultados preliminares del efecto de la aplicación de *Azotobacter chroococcum* y *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* en el cultivo de tabaco negro al sol. *Cuba Tabaco*, 12(1), 16 - 22.
- Loredo, C., López, L. y Espinosa, D. (2004). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal asociadas con gramíneas: Una revisión. *Terra Latinoamericana*, 22(2), 225-239.
- López, N. (2013). *Efecto de aislados de los géneros Streptomyces y Bacillus como promotores de crecimiento vegetal en frijol (Phaseolus vulgaris L.)*. (Tesis de Maestría). Instituto Politécnico Nacional, Sinaloa, México.

- Ma, Y., Galinski, E., Grant, W., Oren, A., & Ventosa, A. (2010). Halophiles 2010: Life in Saline Environments. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(21), 6971 – 6981.
- Mantilla, M. (2007). *Evaluación de la acción de un bioinoculante sobre un cultivo de crisantemo (Chrysanthemum morifolium var. Yoko ono) en periodo de enraizamiento*. (Tesis de Pregrado). Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
- Martín, A. (2011). *Efectos de la inoculación del hongo de micorrización Tuber melanosporum y la rizobacteria Pseudomonas fluorescens en la calidad de la plántula de Pinus halepensis* (Tesis de Pregrado). Universidad Politécnica de Madrid, España.
- Martínez, O., Jorquera, M., Crowley, D., Gajardo, G. & Mora, M. (2010). Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rizobacteria. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 10(3), 293-319.
- Mena. H., Cruz, A., Paredes, O., Gómez, M & Portugal, V. (2009). Fruit texture related changes and enhanced shelf-life through tomato root inoculation with *Bacillus subtilis* BEB\_13BS. *Agrociencia*, 43(6), 559-567.
- Meseguer, I. (2004). Los microorganismos halófilos y su potencial aplicado en biotecnología. *Ciencia e Investigación*, 7(2), 13-17.
- Mogollón, J. (2014). *Efecto del uso del vermicompost para la biorremediación de suelos salino-sódicos del Estado Falcón* (Tesis de Maestría). Universidad Yacambú, Venezuela.
- Naz, L., Bano, A., Rehman, B, Pervaiz, S., Iqbal, M., Sarwar, A & Yasmin, F. (2012). Potential of *Azotobacter vinelandii* Khsr1 as bio-inoculant. *African Journal of Biotechnology*, 11(45), 10368-10372.
- Nezarat, S & Gholami, A. (2009). Screening plant growth promoting rhizobacteria for improving seed germination, seedling growth and yield of maize. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 12(1), 26-32
- Nicolalde, A. y Quintana, D. (2010). *Utilización de bacterias fijadoras de nitrógeno (Azotobacter) y solubilizadoras de fósforo en el cultivo de brócoli (Brassica oleraceae var. Legacy) en Otavalo*. Universidad Técnica del Norte, Ecuador.
- Nihorimbere, V., Ongena, M., Smargiassi, M. & Thonart P. (2011). Beneficial effect of the rhizosphere microbial community for plant growth and health. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 15(2), 327-337.
- Núñez, A. y Vásquez, Y. (2013). *Streptomyces spp. aisladas de rizósfera de Lycopersicon esculentum Mill "tomate" y su potencial como promotoras del crecimiento de plantas en Lambayeque, 2012*. (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.

- Otero, V. (2011). *Aislamiento, selección e identificación de Actinomicetos, bacterias fotosintéticas no sulfurosas y bacterias ácido lácticas con potencial biofertilizante, a partir de suelos asociados al cultivo de plátano en la Costa Atlántica Colombiana*. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- Páez, A., Páez, P., González, M., Vera, A., Ringelberg, D. y Tschaplinski, T. (2007). Crecimiento, carbohidratos solubles y ácidos grasos de verdolaga (*Portulaca oleracea* L.) sometida a tres niveles de radiación. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*, 24, 642-660.
- Partida, L., Velázquez, T., Acosta, B. y Angulo, C. (2006). Extractos vegetales y su efecto en la conductividad eléctrica de dos suelos salinos y de soluciones. *Terra Latinoamericana*, 24(1), 83-89.
- Peralta, I., Knapp, S. & Spooner, D. (2005). New species of wild tomatoes (*Solanum* Section *Lycopersicon*: Solanaceae) from northern Peru. *Systematic Botany*, 30(2), 424-434.
- Postolaky, O., Baltsat, K., Burtseva, S., & Maslobrod, S. (2012). Effect of *Streptomyces* metabolites on some physiological parameters of maize seeds. *Bulletin UASVM Agriculture*, 69(1), 23-29.
- Prieto, G., Prada, L., Cuervo, C. y Franco M. (2015). Evaluación de la producción de ácidos orgánicos por *Streptomyces* spp. y solubilización de tres fuentes de fósforo por la cepa T3A. *Revista Colombiana de Biotecnología*, XVII(1), 111-121.
- Puicón, H. (2014). *Efecto de Pseudomonas spp. nativas en el desarrollo vegetativo de Zea mays L. "maíz" en condiciones de invernadero, 2013*. (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Purisaca, D. y Quevedo, H. (2015). *Eficiencia de la biorremediación de suelos contaminados con petróleo por Actinobacterias nativas de la provincia de Talara, región Piura*. (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Qin, S., Miao, Q., Feng, W., Wang, Y., Zhu, X., Xing, K. & Jiang, J. (2015). Biodiversity and plant growth promoting traits of culturable endophytic actinobacteria associated with *Jatropha curcas* L. growing in Panxi dry-hot valley soil. *Applied Soil Ecology*, 93, 47–55.
- Quillaguamán, J., Hatti, R., Mattiasson, B., Alvarez, M. & Delgado, O. (2004). *Halomonas boliviensis* sp. nov., an alkalitolerant, moderate halophile isolated from soil around a Bolivian hypersaline lake. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54, 721 – 725.
- Ramírez N., Serrano J. y Sandoval H. (2006). Microorganismos extremófilos. Actinomicetos halófilos en México. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 37(3), 56-71.

- Rico, M. (2009). *Capacidad promotora de crecimiento vegetal por bacterias del género Azotobacter y Actinomicetos aislados de cultivos de Solanum tuberosum Linnaeus, 1753 (Papa) cultivados en zonas altoandinas del Perú*. (Tesis de Pregrado) Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.
- Ríos, P. y Zúñiga, L. (2012). *Bacillus spp. aisladas de rizósfera de Lycopersicon esculentum Mill. "tomate" en Lambayeque y su potencial como promotoras del crecimiento de plantas*. (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Rivera, M., Palomo, M., Delgado, G., Estrada, J. y Arcadio, J. (2014). Evaluación de la tolerancia a salinidad y sodicidad de cuatro especies de pasto, en un suelo salino sódico de un bosque urbano. *Agrofaz*, 14(2), 79-82.
- Rodier, J. y Rodi, L. (2005). *Análisis de Aguas*. España: Ediciones Omega.
- Rodríguez, C. (2013). *Evaluación de microorganismos promotores de crecimiento vegetal en tomate (Solanum lycopersicum) variedad Santa Clara, aislados de residuos lignocelulósicos de higuera (Ricinus communis)*. (Tesis de Pregrado). Universidad de Sevilla, España.
- Salaheddin, K., Valluvaparidasan, V., Ladhakshmi, D. & Velazhahan, R. (2010). Management of bacterial blight of cotton using a mixture of *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*. *Plant Protection Science*, 46(2), 41 – 50.
- Salazar, A. y Ordoñez, C. (2013). *Aislamiento e identificación de actinomicetos fijadores de nitrógeno en suelo del Jardín Botánico de la Universidad Tecnológica de Pereira*. (Tesis de Pregrado). Universidad Tecnológica de Pereira, Colombia.
- Sánchez, L y Arguello, H. (2006). Capacidad de bacterias halófilas para capturar sodio *in vitro* y su posible aplicación en biorremediación en suelos salinos-sódicos. *NOVA- Publicación Científica*, 4(6), 19-32.
- Sánchez, B. (2017). *Actinobacterias aisladas de rizoplasma y rizósfera de Asparagus officinalis L. y su potencial como promotoras de crecimiento en plantas*. (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Santillana, N. (2006). Producción de biofertilizantes utilizando *Pseudomonas* sp. *Ecología Aplicada*, 5(1, 2), 87-91.
- Sarajuoghi, M., Ardakani, M., Nurmohammadi, G., Kashani, A., Rejali, F. & Mafakheri, S. (2012). Response of yield and yield components of maize (*Zea mays* L.) to different biofertilizers and chemical fertilizers. *American Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 12(3), 315-320.

- Sathya, A., Vijayabharathi, R. & Gopalakrishnan, S. (2017). Plant growth-promoting actinobacteria: a new strategy for enhancing sustainable production and protection of grain legumes. *Biotechnology*, 7(102), 1-10.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, SAGARPA, 2010. Uso de Fertilizantes. Recuperado de <http://www.sagarpa.gob.mx/desarrollorural/documens/fichasaapt/uso%20de%20fertilizantes>
- Siddiquee, M., Chauhan, P., Anandham, R., Han, G. & Sa, T. (2010). Isolation, characterization, and use for plant growth promotion under salt stress, of ACC deaminase-producing halotolerant bacteria derived from coastal soil. *Journal Microbiology Biotechnology*, 20(11), 1577–1584.
- Soca, R. (2015). *Identificación de tierras degradadas por salinidad del suelo en los cultivos de caña de azúcar en Pomalca usando imágenes de satélite*. (Tesis de Maestría). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú.
- Soriano, M. (2004). Prácticas de diagnóstico y fertilidad de suelos. España: Universidad Politécnica de Valencia.
- Srividya, S., Thapa, A., Bhat, D., Golmei, K. & Dey, N. (2012). *Streptomyces* sp. 9p as effective biocontrol against chilli soilborne fungal phytopathogens. *European Journal of Experimental Biology*, 2(1), 163-173.
- Suwan, N., To-anun, C., Soyton, K & Nalumpang, S. (2012). Evaluation of *Streptomyces*- biofungicide to control chili anthracnose in pot experiment. *Journal of Agricultural Technology*, 8(5), 1663-1676.
- Stechmann, L. (2011). *Crecimiento de Bacillus spp. , Pseudomonas putida y Streptomyces spp., en sustratos con diferente contenido de materia orgánica y pH y su efecto en Solanum tuberosum L. "papa" en invernadero*. (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú.
- Stefan, M., Mihasan, M. & Dunca, S. (2008). Plant growth promoting rhizobacteria can inhibit the *in vitro* germination of *Glycine max* L. seeds. Scientific Annals of University "Alexandru Ioan Cuza" Iasi. *Molecular Biology and Genetics Section*, TOM IX, 3, 105-110.
- Tejera, B., Rojas, M. y Heydrich, M. (2011). Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 42(3), 131-138.
- Tena, A. (2002). *Presencia de hongos micorrízicos arbusculares en plantas silvestres de suelos salinos en el estado de Colima*. (Tesis de Maestría). Universidad de Colima, Colombia.

- Vásquez, P., Holguin, G., Puente, M., López, A. & Bashan, Y. (2000). Phosphate - solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. *Biology and Fertility of Soils*, 30, 460-468.
- Vásquez, A., Díaz, N., Vásquez, O y Vásquez, W. (2012). *Metodología de la Investigación Científica*. Lambayeque, Perú: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.
- Ventosa, A. (2006). *Unusual micro-organisms from unusual habitats: Hypersaline environments*. Spain: University of Seville.
- Wicke, B., Smeets, E., Dornburg, V., Vashev, B., Gaiser, T., Turkenburg, W. & Faaij, A. (2011). The global technical and economic potential of bioenergy from salt-affected soils. *Energy & Environmental Science*, 4, 2669-2681.
- Zhuang, X., Han, Z., Bai, Z., Zhuang, G. & Shim, H. (2010). Progress in decontamination by halophilic microorganisms in saline wastewater and soil. *Environmental Pollution*, 158, 1119–1126.

## **IX. ANEXOS**



## ANEXO 1

### Cálculo del número de muestras para el aislamiento de Actinobacterias rizosféricas (en Vásquez *et al.*, 2012)

$$n = \frac{Z^2(p \cdot q)}{T^2}$$

$$n = \frac{(1,96)^2(0,90 \cdot 0,10)}{(0,08)^2}$$

$$n = 54,02$$

Dónde:

n = Tamaño de la muestra

Z = 1,96 ( $\alpha = 0,05$ ), valor estándar

p = Prevalencia o presencia de Actinobacterias promotoras de crecimiento en plantas (0,90)

q = 1-p, ausencia (0,10)

T = Error estimado (0,08)

## ANEXO 2

### Medios de cultivo para el aislamiento, identificación y caracterización de Actinobacterias rizosféricas

#### a. Agar nutritivo (en García y Muñoz, 2010)

Componentes	gL <sup>-1</sup>
Peptona	5,0
Extracto de carne	3,0
Agar agar	15,0
Agua destilada csp	1000 mL

#### b. Agar avena (en Franco, 2008)

Componentes	gL <sup>-1</sup>
Avena	60,0
Agar agar	15,0
Agua destilada	1000 mL

Pesar 60 g de avena y remojar en 600 mL de agua destilada por 12 horas. Cocinar por 0,5 horas, completar con agua destilada, filtrar y completar a 1000 mL con agua destilada. A continuación, agregar 15 g de agar y disolver al fuego. Esterilizar en autoclave a 121 °C y 15 lb de presión por 20 minutos.

**c. Caldo extracto de suelo al 10% (en García *et al.*, 2010)**

Componentes	gL <sup>-1</sup>
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,4
MgCl <sub>2</sub>	0,1
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,05
FeCl <sub>3</sub>	0,01
CaCl <sub>2</sub>	0,1
Tryptona	1,0
Extracto de levadura	1,0
Extracto de suelo al 10 %	250 mL
Agua destilada	750 mL

Ajustar a pH 7,3. Para obtener extracto de suelo al 10 %, depositar en un matraz 250 g de suelo agrícola y 500 mL de agua destilada. Hervir 2 horas, completar a 500 mL con agua destilada y filtrar el sobrenadante. Tomar 25 mL del filtrado y completar a 500 mL con agua destilada.

**d. Medio de cultivo National Botanical Research Institute, NBRIP (en Alvarado y Valderrama, 2014)**

Componentes	gL <sup>-1</sup>
Glucosa	10,0
Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	5,0
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,1
(MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O)	0,25
KCl	0,2
MgCl <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O	5,0
Agar agar	15,0
Agua destilada	1000 mL
pH	6,80

Solución de antimicótico (en Alvarado y Valderrama, 2014).

Disolver una cápsula de 150 mg de Fluconazol en 10 mL de alcohol al 95%. Agregar 2 mL de solución de antibiótico por litro de medio de cultivo para tener 45 mg de Fluconazol por litro.

**e. Caldo Tripticasa Soya suplementado con triptófano (en García y Muñoz, 2010)**

Componentes	gL <sup>-1</sup>
Peptona de caseína	17,0
Peptona de harina de Soya	3,0
D (+) Glucosa (o dextrosa)	2,5
Cloruro de Sodio	5,0
Fosfato dipotásico	2,5
Triptófano	0,01
Agua destilada csp	1000

Disolver por calentamiento y ajustar a pH 7,3.

### ANEXO 3

#### Procedimiento para elaborar la curva de calibración para cuantificar el ión amonio

##### a. Reactivos (en Lara *et al.*, 2007; Cadena y Martínez, 2011)

###### • Cloruro de potasio 2 M

Cloruro de potasio	149,12 g
Agua destilada	1000 mL

###### • Solución alcohólica de fenol 10 %

Fenol concentrado	10 mL
Alcohol 97°	90 mL

###### • Nitroprusiato de sodio 0,5 %

Nitroprusiato de sodio	0,5 g
Agua destilada	100 mL

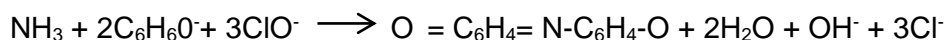
###### • Solución oxidante

Citrato de sodio	20 g
Hidróxido de sodio	1 g
Hipoclorito de sodio 5 % (lejía comercial)	2 mL
Agua destilada	98 mL

##### b. Método colorimétrico de Berthelot para cuantificar el ión amonio (en Lara *et al.*, 2007)

###### b.1 Fundamento del método colorimétrico de Berthelot (fenolhipoclorito)

Se basa en la formación de un color azul intenso de indofenol, que resulta de la reacción del ión amonio ( $\text{NH}_4$ ) con los compuestos fenólicos en presencia de un agente oxidante el cual puede ser hipoclorito de sodio u o-fenilfenol y la presencia de un catalizador, principalmente nitroprusiato de sodio o de potasio. El mecanismo de la reacción depende de la luz presente, la temperatura ambiente, catalizadores y pH alcalino. Cuando se utiliza fenol o hipoclorito de sodio la reacción puede ser representada de la siguiente manera:



### **b.2 Preparación de diluciones a partir de una solución madre de $\text{NH}_4\text{Cl}$**

Para obtener la curva patrón se prepara una solución madre de 100 ppm de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , para lo cual se pesa 0,1 g de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  y se disuelve en 1 L de agua bidestilada. Posteriormente, a partir de la solución madre se efectúan las siguientes diluciones:

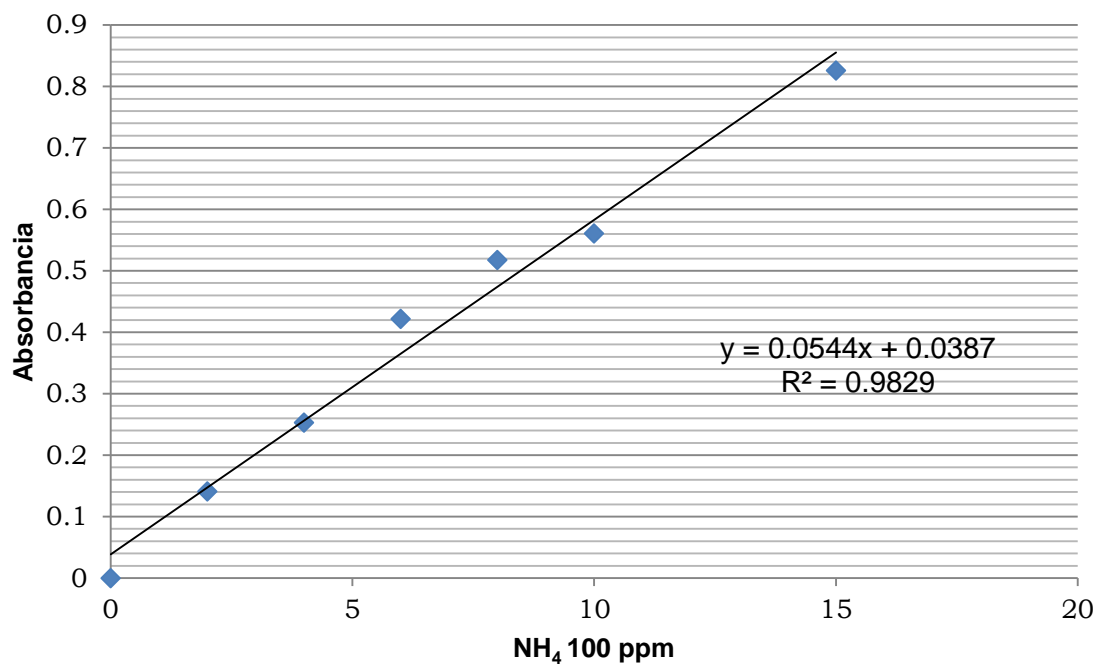
N° de tubo	Solución patrón [mL]	H <sub>2</sub> O bidestilada [mL]	Concentración $\text{NH}_4\text{Cl}$
01	0,0	10	0
02	0,2	9,8	2
03	0,4	9,6	4
04	0,6	9,4	6
05	0,8	9,2	8
06	1,0	9,0	10
07	1,5	8,5	15
08	2,0	8,0	20

### **c.3 Procedimiento para la cuantificación de amonio por colorimetría**

Obtenidas las diluciones, agregar a cada tubo 0,4 mL de solución alcohólica de fenol al 10 %; 0,4 mL de nitroprusiato de sodio al 0,5 % y 1 mL de solución oxidante, luego agitar para mezclar y dejar en reposo durante 1 hora. Observar una coloración que varía del verde azul al azul intenso según la concentración de amonio. Leer la absorbancia de cada dilución en el espectrofotómetro a 632,9 nm. Una vez obtenida la absorbancia de todas las concentraciones de amonio, corregir los valores y mediante regresión lineal con el programa Microsoft Excel 2007, obtener la ecuación de la recta y el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) que deberá ser mayor a 0,9 para demostrar una dispersión homogénea de los valores sobre la recta.

Nº tubo	NH <sub>4</sub> 100 (ppm)	Absorbancia	Absorbancia corregida
01	0	0,058	0,000
02	2	0,199	0,141
03	4	0,311	0,253
04	6	0,480	0,422
05	8	0,576	0,518
06	10	0,619	0,561
07	15	0,884	0,826

Obtenida la absorbancia de las siete concentraciones de amonio, introducir los datos en el programa Microsoft Office Excel 2007 y construir la curva patrón de calibración:



En la ecuación obtenida:

$$y = 0,0544 x + 0,0387$$

Donde:

y: representa la absorbancia captada (variable dependiente)

x: cantidad de amonio en ppm (variable independiente)

Despejar “x” para obtener la cantidad de amonio (ppm) fijado por cada bacteria nativa.

$$x = \frac{y - 0,0387}{0,0544}$$



## ANEXO 4

### Cuantificación de fósforo solubilizado *in vitro*

#### a. Reactivos (en Rodier y Rodi, 2005)

- **Solución de ácido sulfúrico 5 N**

Ácido sulfúrico (d=1,8)	14 mL
Agua destilada hasta enrase	100 mL

- **Solución de molibdato amónico 4 %** 20 mL

- **Solución de ácido ascórbico**

Ácido ascórbico	1,76 g
Agua destilada hasta enrase	100 mL

- **Solución de emético**

Tartrato doble de antimonio y potasio	0.0274 g
Agua destilada hasta enrase	100 mL

- **Reactivo para determinación de ortofosfatos**

Ácido sulfúrico 5 N	40 mL
Solución de molibdato amónico	12 mL
Solución de ácido ascórbico	24 mL
Solución de emético	4 mL

- **Solución madre de 0,2 mgL<sup>-1</sup> de fósforo**

Fosfato monopotásico previamente desecado	877 g
en estufa a 100 °C:	
Agua destilada hasta enrase	100 mL

- **Solución hija de 2 mgL<sup>-1</sup> de fósforo**

Diluir 1 mL de solución madre en 99 de agua destilada (1/100)

#### b. Método colorimétrico del Molibdato para cuantificar fósforo soluble (en Rodier y Rodi, 2005)

##### b.1 Fundamento

En medio ácido y en presencia de molibdato amónico, los ortofosfatos forman un complejo fosfomolibdico que, reducido por el ácido ascórbico, desarrolla una coloración azul susceptible de una determinación colorimétrica y cuya aparición se acelera utilizando el catalizador emético, tartrato doble de antimonio y potasio.

## b.2 Limpieza de los recipientes de vidrio

Para la limpieza del material de vidrio no utilizar detergentes que contengan fosfato. Lavados con ácido clorhídrico diluido y enjuagados cuidadosamente con agua destilada.

## b.3 Preparación de la curva de calibración

Colocar en una serie de matraces aforados de 25 mL:

Número de matraces	T	I	II	III
Solución salina de fósforo de $2 \text{ mgL}^{-1}$ (mL)	0	1	2	5
Agua bidestilada (mL)	20	19	18	15
Reactivo indicador (mL)	4	4	4	4
Agua destilada hasta enrase (mL)	25	25	25	25
Correspondencia de fósforo en $\text{mgL}^{-1}$	0	0,1	0,2	0,5

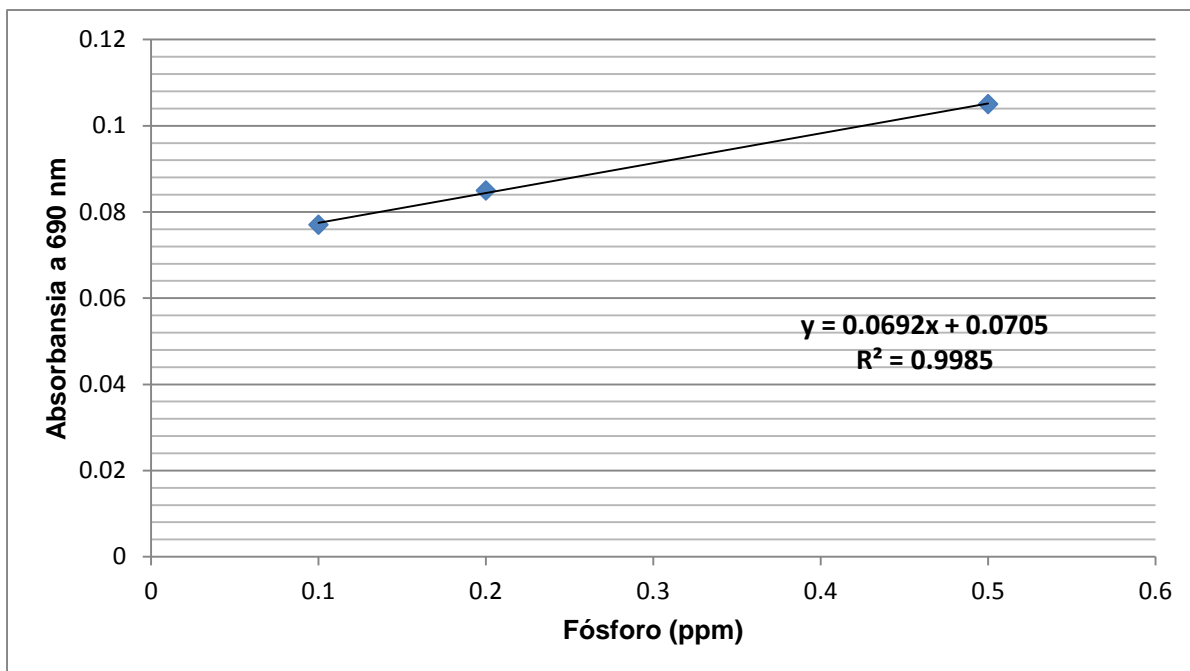
Esperar 20 minutos y efectuar las lecturas en el espectrofotómetro a la longitud de onda de 690 nm en cubetas de 10 cm. Construir la curva de calibración. Los datos de la absorbancia corregida se analizan mediante regresión lineal con el programa Microsoft Excel 2007 para obtener la ecuación de la recta y el coeficiente ( $R^2$ ) que deberá ser mayor a 0,9 para demostrar una dispersión homogénea de los valores sobre la recta.

## b.4 Procedimiento para cuantificar fosfatos en la muestra

Introducir 20 mL de la muestra a analizar en un matraz aforado de 25 mL. Añadir 4 mL de reactivo indicador, completar el volumen a 25 mL con agua destilada. Esperar 20 minutos y efectuar la lectura en el espectrofotómetro de luz visible con una longitud de onda de 690 nm. Tener en cuenta el valor leído para el testigo. Obtener los resultados en la curva de calibración. Para una muestra de 20 mL, la curva indica el contenido de fósforo expresado en miligramos por litro.

Nº de tubo	Fósforo soluble (ppm)	Absorbancia
1	0,1	0,077
2	0,2	0,085
3	0,5	0,105

Una vez obtenida la absorbancia de las tres concentraciones de fosfato dicálcico, introducir los datos en el programa Microsoft Office Excel 2007 y construir la curva patrón de calibración:



En la ecuación obtenida:

$$y = 0,0692 x + 0,0705$$

Donde:

y: representa la absorbancia captada (variable dependiente)

x: cantidad de fósforo en ppm (variable independiente)

Despejar "x" para obtener la cantidad de fósforo (ppm) producida por cada bacteria nativa.

$$x = (y - 0,0705) / 0,0692$$

## ANEXO 5

### Procedimiento para elaborar la curva de calibración para cuantificar indoles

#### a. Reactivos

##### Reactivo de Salkowski (en García y Muñoz, 2010)

Componentes	g $L^{-1}$
Agua destilada	250,0
Ácido sulfúrico concentrado	150,0
Cloruro de hierro 0,5 M en agua destilada	7,5

Al momento de la preparación, verter el ácido sulfúrico concentrado en un balón con 25 mL de agua destilada y simultáneamente enfriar con chorro de agua constantemente. Finalmente agregar el cloruro férrico. Utilizar 4 mL de reactivo para 1 mL de la muestra investigada.

#### b. Método colorimétrico de Salkowski para cuantificar indoles (en Mantilla, 2007)

##### b.1 Fundamento de la reacción de Salkowski

Por la reacción de Salkowski se detectan grupos indol presentes en el medio y la concentración de indol es directamente proporcional a la intensidad de color rojo producido. A su vez, el cambio de color es el resultado de una reacción oxidativa con el ácido sulfúrico, donde por medio de una transaminación un grupo amino es sustituido por el cloro proveniente del  $FeCl_3$ , originando un compuesto visible de color rosado a rojo en el caso del indolacético. Otras coloraciones indican la presencia de productos intermedios de la síntesis del ácido indolacético, que pueden ser generados a partir del triptófano.

##### b.2 Preparación de diluciones a partir de una solución madre de AIA

Para obtener una curva patrón de ácido indolacético, preparar una solución madre de 100 ppm, para lo cual se pesan 10 mg de ácido indolacético y se disuelven con unas gotas de NaOH en un matraz aforado a 100 mL. A continuación enrasar con agua bidestilada y agitar hasta homogenizar. Posteriormente se realizan las siguientes diluciones:

N° de tubo	Solución patrón (100 µgmL <sup>-1</sup> )	H <sub>2</sub> O bidestilada [µL]*	Concentración AIA (mgL <sup>-1</sup> )
01	0	1000	0
02	20	980	2
03	40	960	4
04	60	940	6
05	80	920	8
06	100	900	10
07	150	850	15
08	200	800	20
09	300	700	30
10	400	600	40
11	500	500	50
12	600	400	60

\*1000 µL = 1 mL

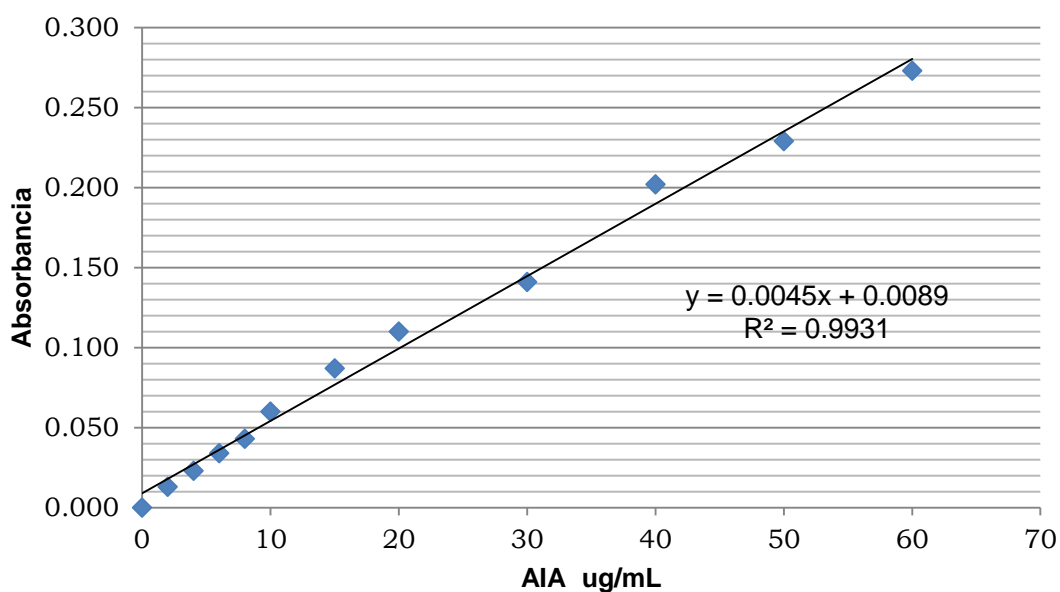
### c.3 Procedimiento para la cuantificación de AIA por colorimetría

Obtenidas las concentraciones parciales de AIA extraer de cada tubo 0,4 mL de solución, verter en tubos de 13 x 75 mm y agregar 1,6 mL de reactivo de Salkowski (1:4). Dejar en reposo en oscuridad por 30 minutos. Observar la presencia de una coloración rojiza en los tubos. A continuación, leer la absorbancia de cada dilución en espectrofotómetro a 530 nm.

Una vez obtenida la absorbancia en todas las concentraciones de ácido indolacético, corregir los valores y mediante regresión lineal en el programa Microsoft Excel 2007, obtener la ecuación de la recta y el coeficiente (R<sup>2</sup>) que deberá ser mayor a 0,9 para demostrar una dispersión homogénea de los valores sobre la recta.

N° tubo	AIA (µg/mL)	Absorbancia
1	0	0,000
2	2	0,013
3	4	0,023
4	6	0,034
5	8	0,043
6	10	0,060
7	15	0,087
8	20	0,110
9	30	0,141
10	40	0,202
11	50	0,229
12	60	0,273

Obtenida la absorbancia de las doce concentraciones de ácido indol acético, introducir los datos en el programa Microsoft Office Excel 2007 y construir la curva patrón de calibración:



En la ecuación obtenida:

$$y = 0,0045x + 0,0089$$

Donde:

y: representa la absorbancia captada (variable dependiente)

x: ácido indolacético en ppm (variable independiente)

Despejar "x" para obtener la cantidad de ácido indolacético (ppm) producido por cada bacteria nativa.

$$x = \frac{y - 0,0089}{0,0045}$$

## ANEXO 6

### Temperaturas mínima, media y máxima durante el cultivo *Solanum lycopersicum* L.

Fecha	Temperatura mínima (°C)	Temperatura media (°C)	Temperatura máxima (°C)
27 de julio	18	21	24
28 de julio	17	21	25
29 de julio	17	20,5	24
30 de julio	17	21	25
31 de julio	17	20,5	24
01 de agosto	17	20,5	24
02 de agosto	17	21	25
03 de agosto	16	20	24
04 de agosto	17	21	25
05 de agosto	16	20	24
06 de agosto	16	20	24
07 de agosto	16	20	24
08 de agosto	16	20	24
09 de agosto	16	20	24
10 de agosto	15	19,5	24
11 de agosto	16	19,5	23
12 de agosto	17	20,5	24
13 de agosto	17	20,5	24
14 de agosto	16	20,5	24
15 de agosto	16	20,5	25
16 de agosto	17	22	26
17 de agosto	17	21,5	26
18 de agosto	17	21,5	26
19 de agosto	17	21,5	26
20 de agosto	17	21,5	26
21 de agosto	18	21,5	25
22 de agosto	18	21,5	25
23 de agosto	17	21	25
24 de agosto	17	20,5	24
25 de agosto	17	20,5	24

Continuación...

<b>Fecha</b>	<b>Temperatura mínima (°C)</b>	<b>Temperatura media (°C)</b>	<b>Temperatura máxima (°C)</b>
26 de agosto	16	19	22
27 de agosto	14	19,5	25
28 de agosto	13	18,5	24
29 de agosto	14	19,5	25
30 de agosto	16	20	24
31 de agosto	16	20	24
01 de septiembre	17	21	25
02 de septiembre	18	21,5	25
03 de septiembre	16	21	26
04 de septiembre	18	21,5	25
05 de septiembre	18	21,5	25
06 de septiembre	17	21	25
07 de septiembre	18	22	27
08 de septiembre	18	22	26
09 de septiembre	19	23	27
10 de septiembre	18	22,5	27
11 de septiembre	18	22	26
12 de septiembre	18	22	26
13 de septiembre	18	22	26
14 de septiembre	19	22	25
15 de septiembre	18	22	26
16 de septiembre	19	22	25
17 de septiembre	19	23	27
18 de septiembre	18	21,5	25
19 de septiembre	18	22	26
20 de septiembre	18	22	26
21 de septiembre	18	22	26
22 de septiembre	18	21,5	25
23 de septiembre	19	22,5	26
24 de septiembre	19	22,5	25



## ANEXO 7

### Prueba de homogeneidad de varianzas y análisis de varianza de altura de *Solanum lycopersicum* L. a los 30 días

#### Prueba de homogeneidad de varianzas

Altura a los 30 días.

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
2,892	24	125	,060

#### ANOVA de un factor

Altura a los 30 días.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	955,998	24	39,833	19,651	,000
Intra-grupos	253,377	125	2,027		
Total	1209,374	149			

## ANEXO 8

### Prueba de homogeneidad de varianzas y análisis de varianza de la altura de *Solanum lycopersicum* L. a los 45 días

#### Prueba de homogeneidad de varianzas

Altura a los 45 días.

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
1,438	24	125	,103

#### ANOVA de un factor

Altura a los 45 días.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	751,940	24	31,331	14,048	,000
Intra-grupos	278,788	125	2,230		
Total	1030,728	149			

## ANEXO 9

### Prueba de homogeneidad de varianzas y análisis de varianza de la altura de *Solanum lycopersicum* L. a los 60 días

#### Prueba de homogeneidad de varianzas

Altura a los 60 días.

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
1,260	24	125	,206

#### ANOVA de un factor

Altura a los 60 días.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	649,731	24	27,072	8,710	,000
Intra-grupos	388,537	125	3,108		
Total	1038,268	149			

## ANEXO 10

### Prueba de homogeneidad de varianzas y análisis de varianza de peso de biomasa aérea de *Solanum lycopersicum* L. a los 60 días

#### Prueba de homogeneidad de varianzas

Altura a los 60 días.

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
1,215	24	125	,242

#### ANOVA de un factor

Altura a los 60 días.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	247,279	24	10,303	29,554	,000
Intra-grupos	43,579	125	,349		
Total	290,858	149			